

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Metabolické přeměny konopných extraktů v podmínkách
in vitro statického trávicího modelu**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Tomáš Skala

Obor studia: Výživa a potraviny (AMD)

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

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Metabolické přeměny konopných extraktů v podmínkách *in vitro* statického trávicího modelu" 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 11.4. 2019

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval své vedoucí diplomové práce Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D. za její věnovaný čas, trpělivost, ochotu a odborné rady, které mi poskytla při zpracování této práce. Poděkování patří také mé rodině a přátelům kteří mě po celou dobu podporovali.

Metabolické přeměny konopných extraktů v podmínkách *in vitro* statického trávicího modelu

Souhrn

V posledních letech se stále častěji diskutuje o terapeutickém využití konopí. Mnoho studií ukazuje, že účinné látky této rostliny (kanabinoidy tetrahydrokanabinol, kanabidiol a terpeny) mají velký léčebný potenciál u mnoha onemocnění a nemusí být využívány pouze jako rekreační droga. V literární rešerši byly shrnuty základní poznatky o konopí a biologicky aktivních látkách. Dále byla popsána biodostupnost kanabinoidů a terpenů, a jejich metabolismus společně s poznatky o trávicím traktu člověka a využití konopí v oblasti medicíny.

Tato práce byla zaměřena na vyhodnocení metabolických přeměn vybraných kanabinoidů (THC) a terpenů během *in vitro* simulované digesce. Čtyři extrakty z kultivaru konopí McLove vyrobeny odlišným způsobem extrakce (superkritická fluidní extrakce CO₂, etanol, butanol a dimethyléter) byly podrobeny trávení v gastrické a intestinální fázi *in vitro*. Obsah účinných látek byl detekován v původním extraktu a poté porovnán se vzorky, které prošly digescí za použití plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID) a plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC/Q-TOF).

Dle výsledků bylo zjištěno, že během trávení dochází k výrazným úbytkům THC, které se liší v závislosti na rozpouštědle a metodě, kterou byl extrakt připraven. Nejnižší úbytek byl zaznamenán u dimethyléterového extraktu ($38,58 \pm 3,53$ %), nejvyšší pak u extraktu butanového ($62,45 \pm 5,13$ %). U terpenů došlo také k výrazným úbytkům oproti původním extraktům, ale během gastrické fáze došlo k nárůstu některých identifikovaných terpenů ve všech vzorcích, nejvíce u dimethyléterového extraktu. V intestinální části byl pak zaznamenán vysoký úbytek většiny terpenů ve všech extraktech ($66,30$ – $72,97$ %). Z výsledků bylo dále zjištěno, že některé terpeny, které nebyly v původních extraktech detekovány, mohou vznikat během trávicích procesů.

Z předběžných výsledků vyplývá, že trávicí trakt, respektive kyselé prostředí a enzymy, by mohly významně ovlivnit biodostupnost a zastoupení některých biologicky aktivních látek konopí.

Klíčová slova: konopné extrakty, konopné produkty, trávicí metoda, *in vitro*

Metabolic changes of cannabis extracts and products determined by *in vitro* digestion method

Summary

In the past years there have been numerous discussions about therapeutic use of cannabis. Many studies have shown that the active substances of this plant (cannabinoids tetrahydrocannabinol, cannabidiol, terpenoids) have significant healing properties in many diseases, and therefore can be used more extensively than only as a recreational drug.

The literary research summarizes basic findings about cannabis and biologically active substances. The bioavailability of cannabinoids and terpenoids and their metabolism is described along with the findings about the human digestive system and the use of cannabis in the field of medicine.

The thesis is focused on an evaluation of metabolic changes of the chosen cannabinoids (THC) and terpenoids during an *in vitro* simulated digestion. Four extracts from cultivar of the cannabis McLove produced by various ways of extraction (supercritical fluid extraction, ethanol, butane, dimethylether) were subjected to digestion in gastric and intestinal phase *in vitro*. The content of the active ingredients was detected in the original extract and consequently compared with the samples. The samples were subjected to digestion using gas chromatography with flame ionization detector (GC/FID) and gas chromatography mass spectrometre (GC/Q-TOF). The findings show there is significant reduction of THC in the digestion process, however the reduction varies according to the extraction method used. The lowest reduction was in dimethylether extract ($38,58 \pm 3,53$ %), the highest in butane extract ($62,45 \pm 5,13$ %).

There was significant reduction in terpenoids as well compared with the original samples. However, there was notable growth in the gastric phase in some identified terpenoids in all samples, with the highest one being in the dimethylether extract. There was high reduction of most of the terpenoids in the intestinal phase (66,30–72,97 %). Furthermore, the findings also show that some terpenoids not detected in the original extracts can be created during digestion processes.

As it has been found from the preliminary results, the digestive system, specifically the acidic environment and enzymes, could significantly influence bioavailability and representation of some biologically active substances of cannabis.

Keywords: cannabis extracts, cannabis products, digestion method, *in vitro*

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl a hypotéza práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Konopí (<i>Cannabis sp.</i>)	10
3.1.1 Historie konopí a současnot.....	10
3.1.2 Popis rostliny	11
3.1.3 <i>Cannabis sp.</i> v právním řádu ČR.....	12
3.2 Biologicky aktivní látky	13
3.2.1 Kanabinoidy.....	14
3.2.1.1 Delta-9-tetrahydrokanabinol (THC).....	14
3.2.1.2 Kanabidiol (CBD)	16
3.2.1.3 Kanabinol (CBN).....	17
3.2.1.4 Ostatní kanabinoidy.....	17
3.2.2 Terpeny	17
3.2.3 Ostatní látky.....	19
3.3 Osud konopí v organismu	20
3.3.1 Biodostupnost kanabinoidů a terpenů.....	20
3.3.2 Metabolismus kanabinoidů a terpenů	22
3.3.2.1 THC	22
3.3.2.2 CBD.....	23
3.3.2.3 Terpeny.....	24
3.3.3 Synergické účinky kanabinoidů a terpenů	25
3.3.4 Trávicí trakt člověka	26
3.3.5 Trávicí modely <i>in vitro</i>	28
3.4 Léčebné účinky konopí	29
3.4.1 Endokanabinoidní systém.....	30
3.4.2 Současné využití konopí v medicíně	32
3.5 Konopné produkty	33
4 Materiál a metody	35
4.1 Konopný extrakt	35
4.2 <i>In vitro</i> trávicí model	35
4.2.1 Příprava zásobních roztoků.....	36
4.2.2 Zásobní roztoky konopných extraktů	37
4.3 <i>In vitro</i> trávení	37
4.3.1 Slinná a gastrická fáze	38

4.3.2	Intestinální fáze.....	38
4.4	Příprava vzorku na analýzu.....	38
4.4.1	Analýza terpenů.....	39
4.4.2	Analýza kanabinoidů.....	40
4.5	Vyhodnocení dat.....	40
5	Výsledky.....	41
5.1	THC.....	41
5.2	Terpeny.....	44
6	Diskuze.....	51
7	Závěr.....	54
8	Literatura.....	55
9	Seznam obrázků, tabulek a grafů.....	81
10	Samostatné přílohy.....	82

1 Úvod

Konopí patří k nejstarším rostlinám, které byly člověkem již v dávných dobách využívány k léčebným účelům. Pro své léčebné účinky bylo používáno už ve starověké Číně, odkud se postupně rozšířilo do jiných zemí. Vzhledem k faktu, že konopí obsahuje psychoaktivní Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC) a současně je jednou z nejvíce používaných drog ve světě, byla tato rostlina s vyšším obsahem THC ve většině zemí po dlouhou dobu kriminalizována. O léčebném využití konopí (*Cannabis sativa* L.) a kanabinoidů bylo publikováno tisíce článků a studií, kterými se zabývala celá řada mezinárodních institucí a uznávaných vědeckých pracovníků. V současné době je vyšlechtěno a popsáno více než 1000 kultivarů konopí, které se liší ve složení a množství biologicky účinných látek. Mnoho vědeckých prací se zabývá pěstováním konopí pro maximální výnos semen, nebo na produkci kvalitních vláken. Studií zabývajících se účinky konopných látek na různé nemoci byla publikována celá řada. Z většiny těchto studií vyplývá, že konopí je velmi efektivní doplněk k podpůrné léčbě nemocí, jako je rakovina. Samotné konopí dle mnoha studií i lečí. Nalézá využití při léčbě Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby, roztroušené sklerózy, nechutenství, AIDS, epilepsie a mnoha dalších. Obliba konopných přípravků jako jsou extrakty či požívatiny pro léčebné využití vzrůstá a s tím úzce souvisí způsob aplikace. Kouření prokazatelně poškozuje zdraví, a tak se stále více pacientů obrací na orální podávání konopných produktů. Avšak mechanismy účinku a biodostupnost při této aplikaci nejsou zatím dostatečně objasněny. Lidský zažívací trakt je velmi složitý sled dějů, které mohou ovlivnit složení a biodostupnost látek z konopí. Objasnění těchto mechanismů v *in vitro* podmínkách by mohlo napovědět, co se s biologicky aktivními látkami stane v gastrointestinálním traktu člověka. Tyto údaje by mohly být velmi cenné v budoucí léčbě onemocnění za použití konopí a jeho aktivních látek.

2 Cíl a hypotéza práce

Hlavním cílem práce bylo popsat metabolické přeměny vybraných kanabinoidů a terpenů přítomných v konopných extraktech nebo dalších produktech v *in vitro* podmínkách.

Hypotézy:

- 1) V průběhu trávení konopných produktů dochází k chemickým změnám přítomných biologicky aktivních látek.
- 2) V průběhu trávení se mění dostupnost biologicky aktivních látek přítomných v konopných produktech

3 Literární rešerše

3.1 Konopí (*Cannabis sp.*)

3.1.1 Historie konopí a současnot

Konopí je jedna z nejstarších kulturních plodin, která byla člověkem pěstována. První zmínky o této rostlině se datují již do mladší doby kamenné. (Dupal 2010). Odkud konopí přesně pochází, není známo, ale většina odborných studií se shoduje, že rostlina je původem ze střední Asie, kde rostla na úpatí Himalájí (Booth 2004). Největší rozmach kultivace konopí byl ve starověké Číně. Tamní obyvatelé ze semen lisovali olej a zbytky po lisování používali jako kvalitní krmivo pro zvířata, také se naučili z konopných vláken vyrábět velmi kvalitní papír. Ten se dodnes používá v Kanadě na výrobu bankovek (Dupal 2010). První zmínky o užití konopí jako léku pochází ze spisu Pen Tsa'o Ching, který napsal čínský císař Shen-Nung kolem roku 2700 př.n.l. V tomto díle doporučoval užití byliny proti malárii, zácpě, dně a ženským poruchám (Miovský et al. 2008).

Do Evropy se konopí dostalo kolem roku 2800 let př. n. l. zásluhou kočovných kmenů Skythů. Ti s sebou pravděpodobně kromě semen přinesli i vědomosti o jeho užívání. Postupně se konopí stalo velmi významnou plodinou ve většině evropských zemí. Uplatnění nacházelo zejména při výrobě lan a oděvů. Největší rozmach v Evropě nastal až v 19. století. Hlavním centrem byla Paříž, kde konopí společně s opiem užívali bohémové a lidé z vyšších společenských vrstev (Dupal 2010).

Pěstování a užívání této rostliny se postupně rozšířilo téměř po celém světě a ve velké části kultur mělo a stále má důležitou roli. Ať už se jedná o využití na výrobu vláken, nebo při různých náboženských obřadech a šamanských rituálech (Robinson 1996).

Pro lékařské využití se v posledních letech využívají CBD odrůdy, které jsou bohaté na kanabidiol. Při současném snížení obsahu THC mohou být obě látky ve vyváženém poměru. Vyšší obsah CBD částečně tlumí psychoaktivní účinky THC, které mohou být pro pacienty nežádoucí (Blakey & Marks 2014).

Relativně novými přípravky na trhu jsou preparáty obsahující CBD. Tyto oleje, tinktury nebo extrakty mohou obsahovat i více než 50 % kanabidiolu a pouze do 0,2 % THC a splňují tak legislativu. Přípravky jsou ve většině zemí EU povoleny a není nutné vlastnit elektronický předpis, či jiné povolení k jejich používání (Endoca.com 2019).

3.1.2 Popis rostliny

Konopí (*Cannabis sp.*) je jednoletá, dvoudomá, krytosemenná rostlina z čeledi *Cannabaceae* (Adams 2012).

Jedná se o krátkodenní rostlinu, která kvete, pokud je den kratší než 15 hodin. Listy jsou zelené, mají zubatou čepel a jsou jedno až jedenáctičetné (Dupal 2010). Stonek je vláknitý a pevný. Samčí květenství je hroznovitého uskupení. Květy jsou drobné a obsahují velké množství pylu, který je schopen za příznivého větru opylit rostlinu až 12 kilometrů vzdálenou (Miovský et al. 2008). Samičí květenství tvoří takzvané palice. Květy jsou pokryty pryskyřicí, která obsahuje většinu účinných látek rostliny, jako je delta-9-tetrahydrokanabinol (THC), kanabidiol (CBD), kanabinol (CBN) a další (Holland et al. 2014).

Plodem konopí je nažka, která obsahuje velké množství tuků. Dále semeno obsahuje i nezanedbatelné množství kvalitních bílkovin, které obsahují dobrý poměr esenciálních aminokyselin (Dupal 2010).

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) bylo poprvé odborně popsáno roku 1737 Švédským botanikem Carlem Linné. Roku 1785 objevil francouzský biolog Jean Baptiste de Lamarck ve východní Indii nový druh konopí *Cannabis indica*. V roce 1924 objevil ruský botanik D. E. Janischewsky třetí druh konopí, který nazval *Cannabis ruderalis* (Miovský et al. 2008).

Konopí seté dorůstá výšky až 6 metrů (Ruman 2014). Málo se větví a obsah účinných látek je nižší než u konopí indického. Konopí indické (*Cannabis sativa*, var. *indica*) je kmen konopí setého. Rostlina je menšího vzrůstu, ale velmi bohatě se větví (viz Obrázek 1). Obsah látek je vyšší než u konopí setého (Dupal 2010). Ohledně taxonomického zařazení *C. indica* a *C. ruderalis* nepanuje jednotný názor. Někteří tvrdí, že se jedná o poddruhy *C. sativa*, ale například Hilling (2005) zastává názor, že se jedná o samostatné druhy. V současné době existuje na trhu značné množství různých kříženců konopí setého, indického a rumištního. Většina kříženců pochází z několika původních odrůd, jejichž domovem je úpatí Himalájí. Těmito odrůdami jsou Pakistan a Afghani, typičtí představitelé konopí indického, dále pak odrůdy konopí setého, které pochází z Mexika, Brazílie, Vietnamu, či Thajska. V posledních letech jsou k dostání i odrůdy s mnohonásobně menším poměrem psychoaktivního delta-9-THC ku CBD (Seedfinder 2019).



Obrázek č. 1: Druhy konopí (Marijuanamedicine.co.za 2017)

3.1.3 *Cannabis sp.* v právním řádu ČR

Zákony o konopí v České republice jsou v Evropském měřítku relativně tolerantní. Lze se s ním na lékařský předpis léčit, byť omezeně. Samotné užívání zakázané není, a pěstování, či držení malého množství je pouhým přestupkem. Například na Slovensku hrozí velmi vysoké tresty již za držení pouhého jednoho gramu sušiny a kultivace jen jedné rostliny je už trestným činem. V České republice je možné legálně držet, distribuovat či pěstovat konopí s obsahem THC vyšším než 0,3 % pouze s udělenou výjimkou (Skala 2017). V případě konopného extraktu, nebo jiných produktů obsahujících THC je jeho maximální povolená hladina také 0,3 %. S potravinami obsahujícími konopí, nebo konopný extrakt s obsahem THC vyšším, než 0,3 % je taktéž zakázáno zacházet, vyrábět je, či distribuovat bez udělené výjimky. Výjimku lze udělit dle zákona č. 167/1998 Sb. O návykových látkách. V prvním případě se jedná o lékařské konopí, které si pacient může v našich lékárnách vyzvednout na elektronický předpis. Seznam indikací, na které lze předepsat konopí je uveden ve Vyhlášce č. 236/2015 Sb. Další výjimkou je konopí, jehož obsah THC je max. 0,3 %. Takovéto konopí nemá psychoaktivní účinky a je povoleno pěstování na ploše do 100 m². Pokud je osázená plocha větší, je třeba tuto skutečnost nahlásit příslušnému úřadu. Konopí s takto nízkým obsahem THC se nazývá technické konopí. Poslední výjimku, kterou stát může udělit, je “na pěstování odrůd rostliny konopí (rod *Cannabis*) pro výzkumné účely, pro šlechtění nových odrůd a pro zachování genetické rozmanitosti vědeckými a výzkumnými pracovišti zřízenými zákonem nebo státem vymezené v povolení k zacházení“ podle zákona č. 167/1998 Sb. O návykových látkách.

3.2 Biologicky aktivní látky

Konopí vytváří primární metabolity, mezi které patří aminokyseliny (AK), sacharidy, mastné kyseliny a steroidy. Mezi jednoduché sacharidy vyskytující se v konopí lze uvést například fruktózu, arabinózu, xylózu, manózu, či ramnózu, u disacharidů sacharózu a maltózu. Mezi polysacharidy patří zejména celulóza, hemicelulóza, pektin a xylan (Turner et al. 1980). K mastným kyselinám, které se vyskytují především v semench, se řadí kyselina arachidonová, linoleová (alfa a gamma), ale také eikosanová (Mölleken & Theimer 1997). Konopné semeno patří také k významným zdrojům rostlinných bílkovin. Protein získaný z konopného semínka je bohatý zejména na sirné AK. Celkové spektrum AK je příznivé pro výživu člověka a např. ve srovnání s široce používaným sójovým proteinem je vhodnější (Wang et al. 2008). Choi et al. (2004) uvádí, že určením množství sacharózy, glukózy, asparaginu a glutamové kyseliny lze snadno pomocí NMR od sebe odlišit různé kultivary konopí.

Z farmakologického hlediska se mezi nejvýznamnější látky v konopí řadí sekundární metabolity. Mezi ně patří kanabinoidy a terpeny, které jsou následně popsány. K dalším sekundárním metabolitům se řadí například flavonoidy, lignany, alkaloidy a stilbenoidy (Flores-Sanchez 2008).

Turner et al. (1980) vydal publikaci, ve které identifikoval v konopí setém přes 420 různorodých chemických sloučenin. O 25 let později se počet identifikovaných látek obsažených v konopí zvýšil na 489 (ElSohly & Slade 2005). V roce 2017 je v konopí identifikováno více než 560 látek. Předpokládá se, že v budoucnu bude toto číslo ještě růst (Radwan et al. 2017). Látky, které konopí tvoří, se ukládají napříč celou rostlinou (kořeny, stonky, listy, květy a plody) a velké množství těchto látek je fyziologicky účinných (Dupal 2010).

Nejvýznamnějšími látkami v rostlinách konopí užívaných ve farmakologii a medicíně jsou kanabinoidy, především THC a CBD (Hanuš 2012). Obě sloučeniny se vyskytují v rostlinách konopí ve formě karboxylových kyselin (THCA, CBDA), které mohou tvořit i více než polovinu z celkového obsahu těchto látek. Nejen THC a CBD jsou v rostlinách přítomny ve formě karboxylových kyselin. Další kanabinoidy, jako například kanabigerol (CBG) se v rostlinách konopí vyskytují také ve formě karboxylových kyselin (Lehmann & Brenneisen 1995). Kanabinoidy ve formě karboxylových kyselin vykazují nižší biologickou aktivitu než tytéž látky po dekarboxylaci dosažené odštěpením CO₂ z molekuly kanabinoidu (De Petrocellis et al. 2011).

3.2.1 Kanabinoidy

Kanabinoidy patří chemicky mezi isoprenoidy. Nejběžněji jsou syntetizovány z monoterpenů (C_{10}) a seskviterpenů (C_{15}). Výchozí látkou pro biosyntézu kanabinoidů rostlinou je geranyl pyrofosfát (C_{10}), ze kterého sledem enzymatických reakcí vznikají prekurzory pro tvorbu ostatních kanabinoidů (Brenneisen 2007). Kanabinoidy lze také zjednodušeně charakterizovat jako fenolické terpeny (Downer & Cambell 2010).

Obecně můžeme tyto látky zařadit do několika kategorií dle jejich výskytu a vzniku. Látky dělíme na již zmíněné kanabinoidy rostlinného původu (fytokanabinoidy) a endogenní kanabinoidy (endokanabinoidy), což jsou lipofilní signální molekuly, které splňují kritéria pro zařazení mezi neurotransmitery. Třetí skupinou látek jsou syntetické kanabinoidy (Castaneto et al. 2014). Do těchto syntetických látek lze zařadit například sloučeniny JWH-018, nebo JWH-073, které byly jednou z hlavních účinných složek nelegální drogy Spice. Proto se nověji označují kanabinoidy z rostlin konopí častěji jako fytoKANABINOIDY (Schneir et al. 2011).

V roce 2008 bylo popsáno více než šest desítek fytoKANABINOIDŮ izolovaných z rostlin konopí setého (Di Marzo 2008). V roce 2017 se počet fytoKANABINOIDŮ izolovaný z rostlin konopí téměř zdvojnásobil na celkový počet 120 (Radwan et al. 2017).

Většina farmakologických účinků kanabinoidů je realizována prostřednictvím endokanabinoidních receptorů, které jsou lokalizovány především v mozku. Tyto receptory jsou součástí endokanabinoidního systému (Di Marzo et al. 1998).

Nejčastěji jsou využívány jako antiemetika u pacientů podstupujících chemoterapii a jako stimulanty 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 et al. 2002).

3.2.1.1 Delta-9-tetrahydrokanabinol (THC)

THC (Obrázek č.2) je jeden z nejvíce zastoupených kanabinoidů v rostlinách konopí. Přibližně 75–100 % psychoaktivních účinků je způsobeno přítomností této látky. THC je přítomno v celé rostlině, avšak v kořenech a stoncích je jeho obsah velmi nízký. O něco vyšší obsah je obsažen v listech. Nejvyšší obsah THC je v konopné pryskyřici, která pokrývá květy a přilehlé lístky. THC je přítomno ve všech odrůdách i kultivarech konopí. Nízký obsah je v technickém konopí, nebo v konopí rumištním. V usušené směsi tvořené konopnými květy

a okvětními lístky může THC tvořit až 95 % z veškerého přítomného množství kanabinoidů (Miovský et al. 2008).

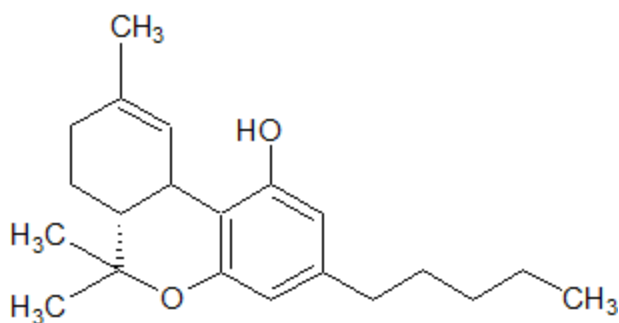
Aby byla rostlina považována za dostatečně psychoaktivně účinnou, měl by být obsah THC v rostlině vyšší, než 1 % (Dupal 2010).

Mezi další psychoaktivní látky, které jsou v konopí zastoupeny minoritně, patří například isomer Δ^8 -THC. Jeho účinnost je ve srovnání s Δ^9 -THC 2:3 (Hollister & Gillespie 1973). Aby THC dosáhlo v organismu místa účinku, musí se dostat do krevního řečiště. Po vstupu do krve je THC metabolizováno na psychoaktivní 11-hydroxy-tetrahydrokanabinol (11-OH-THC). Krví, přesněji plasmou, je následně metabolit transportován nejčastěji do tukové tkáně, ze které se postupně uvolňuje. Biologická dostupnost THC je nevyšší u inhalace, kolem 30 % a jeho maximum v plazmě je nejvyšší 10 minut po inhalaci. Naopak biologická dostupnost u orálně podávaného THC je pouze v rozmezí pouze 4–12 %. Z celkového množství THC se do mozku dostane méně než 1 % THC (McGilveray 2005).

Na trhu jsou řadu let vlivem zvýšeného zájmu o THC dostupné jeho syntetické analogy. Prvním zástupcem je Marinol. Jedná se o syntetickou formu Δ^9 -THC, jehož nechráněný název je dronabinol. Druhým přípravkem je Cesamet, jehož účinnou látkou je nabilon. (Clark et al. 2005). Oba výše zmíněné přípravky se používají ve farmacii na řadu indikací (Ware 2014).

Novějším produktem na trhu je Sativex. Hlavní účinnou složkou je THC společně s kanabidiolem (CBD). Tento přípravek není syntetický, ale je vyroben z konopí, takže obsahuje i terpeny, flavonoidy a další chemické látky (Huestis 2007). Aplikace se provádí orálně vstříknutím přípravku (Iskedjian et al. 2007).

Další možností aplikace kanabinoidů je za použití rektálního čípku. Biologicky aktivní látky se přes střevní sliznici vstřebávají velmi rychle a účinek je dlouhý až 8 hodin. Tento způsob aplikace zabraňuje prvotnímu průchodu krví ledvinami, takže v krvi setrvá více aktivních látek a zároveň je průběh intoxikace méně intenzivní (Miovský et al. 2008).



Obrázek č. 2: Strukturní vzorec THC

3.2.1.2 Kanabidiol (CBD)

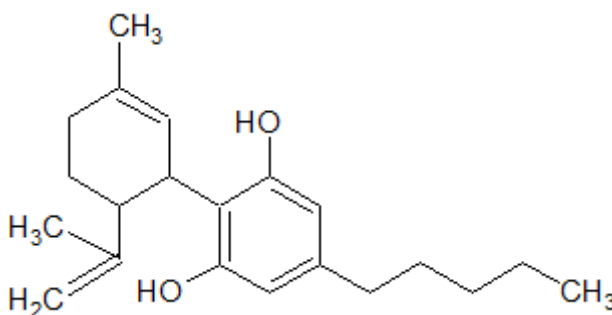
Kanabidiol byl izolován poprvé roku 1940 z extraktu připraveného z divoce rostoucího konopí v USA. V čisté podobě se jedná o bílou, krystalickou látku bez zápachu, která je rozpustná v běžných organických rozpouštědlech, jako je éter, chloroform, petroléter, či metanol. Stejně jako THC je téměř nerozpustná ve vodě (Adams et al. 1940). Strukturální vzorec je uveden na Obrázku č. 3.

CBD je nepsychoaktivní látka, která se vyskytuje ve všech rostlinách konopí. Po THC je druhým nejběžnějším kanabinoidem. U rostlin, které jsou pěstovány na vlákno (technické konopí) je obsah CBD vyšší než obsah THC. Obsah tohoto kanabinoidu může být až 5 %.

Výzkumy CBD v posledních letech prokázaly, že tato látka má pozitivní vliv při epilepsii, či schizofrenii a má protizánětlivé a analgetické účinky. Dále byly prokázány jeho pozitivní vlastnosti při léčbě úzkosti a deprese. Společně pak s THC účinně pomáhá proti roztroušené skleróze nebo neuropatickým bolestem (ElSohly et al. 2007). V nedávné studii byl popsán pozitivní vliv CBD na snížení agresivity a sebepoškozování u dětí s poruchou autistického spektra (Aran et al. 2018).

Tlumivý efekt CBD působí proti povzbuzujícím účinkům THC. Současně posouvá počáteční dobu působení THC a tím lze prodloužit jejich účinky až dvojnásobně. Touto skutečností je možné vysvětlit rozdílné průběhy intoxikací u různých konopných preparátů. Při nízkém obsahu THC a vysokém obsahu CBD by převažoval útlum a pocit slabosti až otupělosti mysli a těla. Pokud by byl poměr látek opačný, tedy nízká koncentrace CBD a vysoká koncentrace THC, výsledkem by byl velmi rychlý a intenzivní nástup psychoaktivních efektů THC (Bhattacharyya et al. 2010).

Metabolismus CBD v těle je obdobný metabolismu THC, při kterém vzniká alkohol a karboxylová kyselina (Harvey & Mechoulam 1990).

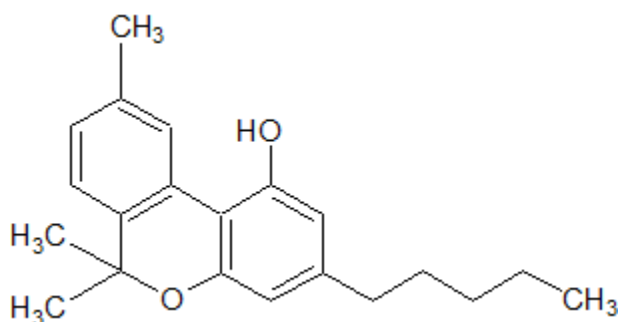


Obrázek č. 3: Strukturální vzorec CBD

3.2.1.3 Kanabinol (CBN)

CBN vzniká v rostlině především jako oxidační produkt THC. Současně je to nejběžněji se vyskytující kanabinoid vzniklý oxidací THC. V čerstvém materiálu je CBN (Obrázek č.4) zastoupeno pouze v nepatrném množství. V dlouhodobě skladovaném materiálu je ho více. Na oxidaci THC na CBN má vliv světlo a teplota během skladování (De Backer et al. 2009).

Psychoaktivní účinky CBN mohou působit na ztrátu orientace a vyvolávat pocity únavy či ospalosti. Účinky jsou mnohem nižší, než u THC (Linares et al. 2017).



Obrázek č. 4: Strukturní vzorec CBN

3.2.1.4 Ostatní kanabinoidy

Mezi další kanabinoidy izolované z rostlin konopí patří kanabigerol (CBG), kanabichromen (CBC) a tetrahydrokanabivarin (THCV). Všechny tyto látky mohou být potenciální léčiva na některé nemoci (Miovský et al. 2008). CBG vykazuje antimikrobiální účinek (Appendino et al. 2008) a může pomáhat při léčbě zeleného zákalu (Colasanti 1990). CBC vykazuje velmi silné antimikrobiální a antifungální účinky (Turner & ElSohly 1980). THCV snižuje hladinu glykémie v krvi, a proto by mohlo být dobrým doplňkem při léčbě cukrovky II. typu (Jadoon et al. 2016). Všechny tyto kanabinoidy vznikají při rozkladu nebo odbourávání výše popsaných kanabinoidů. Rostlina je jako taková netvoří (Booth 2004).

3.2.2 Terpeny

Mezi další biologicky aktivní látky patří terpeny, které tvoří základy silic. V rostlinách konopí bylo identifikováno přes 140 různých terpenických sloučenin (Brenneisen 2007). Jsou to sloučeniny převážně rostlinného původu a vyskytují se v mnoha rostlinách, např. v citrusech, tymiánu, bazalce, mátě, nebo heřmánku. Jedná o malé molekuly složené z izoprenových jednotek, které jsou nepolárního charakteru. Podle množství izoprenových jednotek se dělí na

hemi- (C₅) *mono-* (C₁₀), *sesqui-* (C₁₅), *di-* (C₂₀), *tri-* (C₃₀), *tetra-* (C₄₀) a polyterpeny (C₅)_n. V koncentrované formě mají tyto látky většinou olejovitou konzistenci. Jsou to těkavé, až na výjimky bezbarvé sloučeniny a svou přítomností se výrazně podílí na výsledné chuti a vůni rostlin (Breitmaier 2006).

Konopné silice obsahují velmi pestrou škálu terpenoidních sloučenin (Tabulka č. 1), především pak sloučeniny řazené mezi monoterpeny a seskviterpeny. Stejně jako kanabinoidy jsou produkovány ve žláznatých trichomech samičích rostlin konopí (Fishedick et al. 2010).

Zastoupení terpenů v rostlinách je velmi variabilní. Ross & ElSohly (1996) uvádí, že množství terpenů v sušených květech konopí je kolem 0,8 %, zatímco Lewis et al. (2018) uvádí, že množství terpenů v sušině může být i přes 4 % hmotnosti. Obsah v rostlinách závisí na fázi životního cyklu a také na druhu konopí, jelikož existují patrné rozdíly ve složení silic mezi *C. sativa* a *C. indica* (Small et al. 1976).

U rostlin s převahou *C. indica* jsou zastoupeny zpravidla ve vysokém množství terpeny β -myrcen, limonen, nebo α -pinen. V konopí s převahou *C. sativa* je profil majoritních terpenů bohatší. Jako dominantní terpen může být α -terpinolen, nebo α -pinen, u jiných kultivarů to může β -myrcen, β -pinen, nebo trans- β -ocimen (Elzinga et al. 2015).

Monoterpen myrcen je zodpovědný především u odrůd indického konopí za jejich sedativní účinky. Má protizánětlivé, protirakovinné a analgetické účinky, dále působí jako antidepresivum a svalový relaxant. Také ovlivňuje propustnost buněčných membrán buněk mozku, do kterých se tak může dostat více THC (Rosenthal 2011).

Alfa-pinen je monoterpen, který je nejvíce zastoupen v silicích a pryskyřicích jehličnatých stromů a konopí (Booth et al. 2017). Je zodpovědný u některých odrůd za jejich typickou lesní vůni, která velmi často připomíná borové jehličí. Působí analgeticky a má baktericidní a protizánětlivé účinky (Russo & McPartland 2003).

Mezi významné monoterpeny patří také limonen. Tato sloučenina je zodpovědná za citrusové aroma nejen u rostlin konopí, ale také citrusů, či citrónové trávy. Má protirakovinné, antibakteriální a antidepresivní účinky (Jun et al. 2015). V sušených květech konopí tvoří limonen i více než 17 % všech terpenoidních látek (Russo & ElSohly 1996).

Linalool je další z řady významných monoterpenů, které se v konopí nachází. Má květinovou vůni a vyskytuje se například v silicích rostlin z čeledi hluchavkovitých, či v semenech koriandru. Ve farmakologii se používá především jako antidepresivum nebo proti stavům úzkosti. Dále mu jsou připisovány antibakteriální účinky a účinně potlačuje prvoky rodu *Lesihmania spp.* (Russo 2011).

Kromě výše popsaných terpenů, které jsou majoritně zastoupeny ve většině rostlin konopí, můžeme nalézt v rostlinách např. sabinen, bisabolol, cymen, cineol, fenchol, nebo borneol (Giese et al. 2015). Dále pak geraniol, nerol, mentol, nebo karyofylen oxid (Elzinga et al. 2015).

Geraniol může mít antiepileptický efekt (Wie et al. 1997) a společně s nerolem a několika dalšími terpeny se podílí také na specifické vůni růží (Loghmani et al. 2007). Obě látky také vykazují antimikrobiální vlastnosti (Andoğan et al. 2008). Mentol má antibakteriální, chladivé a bolest zmírňující účinky (Veit 2014). Bisabolol se kromě konopí vyskytuje v relativně vysoké koncentraci v heřmánku. Má protizánětlivé a antialergické účinky. Také se používá v kosmetických přípravcích, jako jsou šampóny nebo čistící vody (Kamatou & Viljoen 2010).

Tabulka č. 1: Nejběžněji se vyskytující terpeny v konopí (Elzinga et al. 2015)

Terpeny	
α -Bisabolol	Limonene
Borneol	Linalool
Camphene	Menthol
Camphor	Myrcene
Δ^3 -Carene	Nerol
β -Caryophyllene	<i>cis</i> -Ocimene
Caryophyllene oxide	<i>trans</i> -Ocimene
α -Cedrene	α -Phelladerene
β -Eudesmol	α -Pinene
(+) Fenchol	β -Pinene
Geraniol	Sabinene
Guaiol	α -Terpinene
α -Humulene	α -terpineol
Isoborneol	Terpinolene

3.2.3 Ostatní látky

Flavonoidy jsou aromatické, polycyklické fenoly. V konopí se nachází přibližně 20 těchto sloučenin buď ve formě volných flavonoidů nebo jako konjugované glykosidy (Turner et al. 1980). Mezi flavonoidy, které se nachází v konopí, patří orientin a vitexin (Vanhoenacker et al. 2002), dále také cannflavin A a cannflavin B, které vykazují mírné protizánětlivé účinky (Barret et al. 1986).

Stilbenoidy jsou fenolické látky, které se vyskytují napříč rostlinnou říší (Groham et al. 1995). Mezi příznivé účinky jejich působení patří protizánětlivé, nebo antioxidační vlastnosti (Stivala et al. 2001).

Někteří autoři uvádí mírné antimikrobiální účinky stilbenoidů z konopí (Molnar et al. 1986), jiní autoři (Kettesen-van den Bosch & Salemink 1978) uvádí že sloučeniny, jako například 3,4'-dihydroxy-5-methoxybibenzyl a 3,3'-dihydroxy-5,4'-dimethoxybibenzyl nevykazují žádné vlastnosti, které by inhibovaly růst bakterií, nebo je usmrcovaly.

Další skupinou látek v konopí jsou alkaloidy. V konopí jich bylo identifikováno 10, např. trigonellin, neurin, muskarin, phenethylamin, dále pak cannabissativin a anhydrocannabissativin, které rostlina biosyntetizuje ze spermidinu (Bienz et al. 2002). V kořenech, stoncích, listech a semenech byl identifikován piperidin a pyrrolidin (ElSohly et al. 1978).

3.3 Osud konopí v organismu

3.3.1 Biodostupnost kanabinoidů a terpenů

Mezi nejčastější způsoby aplikace konopí patří kouření nebo orální užití. Mezi jednotlivými metodami aplikace existuje i významný rozdíl v době nástupu účinku a jeho délce trvání, viz Graf č.1 (Miovský et al. 2008). Dostupnost kanabinoidů podaných orálně se liší od dostupnosti kanabinoidů vdechnutých s kouřem do plic. Biodostupnost THC je při kouření 18–50 % (Agurell et al. 1986). Dostupnost THC je u příležitostných kuřáků nižší než u těžkých kuřáků (Castle & Murray 2004). Millar et al. (2018) uvádí, že biodostupnost CBD je 31 %. Množství THC a ostatních kanabinoidů, které se do plic dostanou, je také značně ovlivněno formou kouření. THC je degradováno během procesu pyrolýzy více ve formě cigaret, než pokud je kouřeno z fajfky (Perez-Reyes 1990). Při inhalaci se THC dostává do krevní plasmy během několika sekund. Po přibližně devíti minutách začne množství THC v plasmě rapidně klesat (Heustis et al. 1992).

Pokud je konopí užito orální cestou, biodostupnost kanabinoidů je nižší. Uvádí se, že dostupnost THC je kolem 6 %, avšak s vysokou variabilitou mezi subjekty (Grotenhermen 2003). Biodostupnost CBD je o něco vyšší než THC, kolem 15 % (Mechoulam et al. 2002).

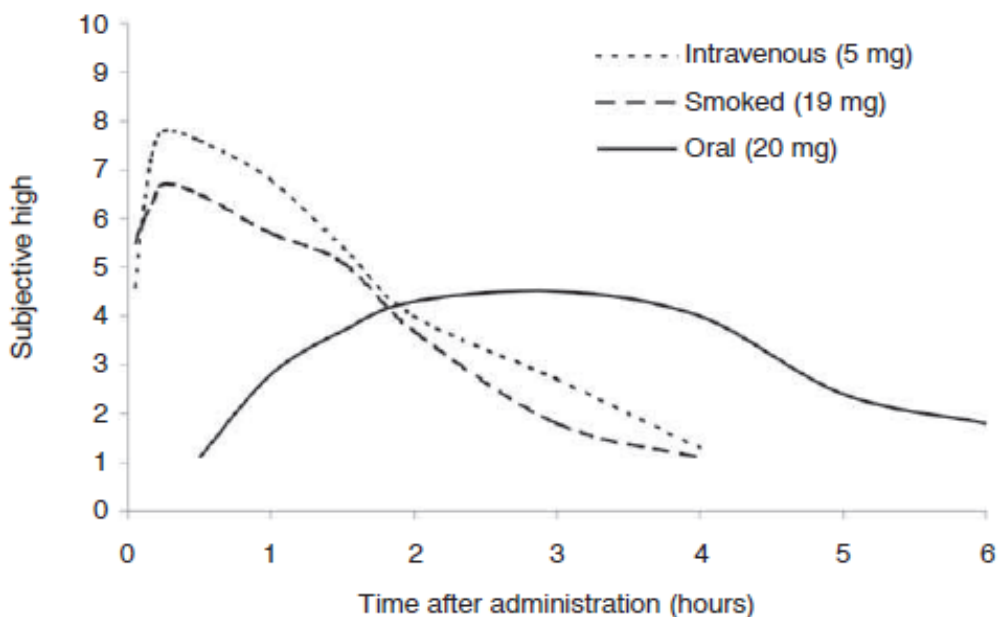
Některé konopné přípravky, jako například Sativex, existují ve formě spreje, který se aplikuje přímo na sliznici dutiny ústní. Biodostupnost kanabinoidů touto cestou je kolem 13 % (Atsmon et al. 2018).

Méně častou cestou užití je rektální aplikace. Při této aplikaci je biodostupnost přibližně 2x vyšší než při orální aplikaci (Brenneisen et al. 1996). Při intravenózní aplikaci je biodostupnost srovnatelná s inhalací (Wall et al. 1983).

Maximální koncentrace je v plazmě dosaženo za 60 až 120 minut (Kramer 2015). V testech na krysách bylo prokázáno, že biodostupnost kanabinoidů může být 2,5 až 3 x vyšší, pokud jsou podávány v souběžně s lipidy. Závěr studie naznačuje, že podobně zvýšené účinky lze očekávat i u lidí, u kterých by mělo toto zvýšení terapeutický význam (Zgair et al. 2016). Podobná studie na krysách uvádí, že při orálním podání kanabinoidů společně s lipidy (sezamový olej) dochází k vysoké koncentraci kanabinoidů v lymfě oproti krevní plazmě. U CBD byla koncentrace 250x vyšší a u THC 100x vyšší než v plasmě. U krysa, kterým nebyl podán sezamový olej, byla koncentrace CBD v lymfě 50x vyšší a koncentrace THC 20x vyšší než v plasmě. Toto zjištění by mohlo pomoci pro lepší dávkování konopí k léčebným účelům (Zgair et al. 2017).

I když jsou terpeny zastoupeny v relativně nižší míře v konopí než kanabinoidy, mají významné biologické účinky v organismu. Stejně jako u kanabinoidů závisí jejich biodostupnost na způsobu podání. Obecně lze konstatovat, že terpenoidní látky vstupují snadno do lidského těla, ať už inhalací, perorálně, nebo přes kůži. Jsou však velmi rychle metabolizovány na řadu sloučenin rozpustných ve vodě. Proto může být složité stanovit jejich množství v organismu (Baser & Buchbauer 2015). Schmidt & Göen (2017) uvádí, že biodostupnost limonenu je při orálním podání kolem 39 %. Pokud je limonen inhalován, jeho biodostupnost je pouze 18 % (Ohlsson et al. 1980). Oproti tomu biodostupnost α -pinenu je při inhalaci u lidí téměř 60 % (Falk et al. 1990). Studie provedena *in vitro*, ve které byla zkoumána biotransformace esenciálních olejů v trávicím traktu naznačuje, že některé terpenoidní látky se mohou adsorbovat na trávicí proteiny (β -myrcen). Geraniol, limonen, nerol, nebo β -caryophylen byly až z 60 % biotransformovány za vzniku nových, potenciálně bioaktivních produktů (Heinlein & Buettner 2012). Ačkoliv je biodostupnost kanabinoidů a terpenů inhalací poměrně vysoká, dostávají se s nimi současně do plic i látky toxické (Russo 2011). Kanabinoidy, terpeny, nebo jiné sloučeniny, mohou být při kouření zničeny, či odpařeny. Teplota varu β -myrcenu, β -karyofylenu, limonenu, nebo α -pinenu se pohybuje od 120 °C do 180 °C, což je podobná teplota, jako u THC (Gieringer 1996). Gieringer (2001) také uvádí, že užitím techniky vaporizace, při které není rostlinný materiál spalován, ale pouze zmlžován při teplotách kolem 140 °C, nevznikají karcinogenní zplodiny. Proto se vaporizace jeví ve srovnání s kouřením jako dobrá volba vzhledem k malým úbytkům terpenů.

Graf č. 1: Časový průběh subjektivních účinků při různých způsobech podání*. Hodnocení stupně “high” bylo provedeno subjekty na úrovni 0 až 10 (nejvyšší).



*Intravenous = intravenózní aplikace, Smoked = kouření, Oral = orální podání. Osa y – stupně “high”, osa x – čas (hodiny) (Hollister et al. 1981; Ohlsson et al. 1980).

3.3.2 Metabolismus kanabinoidů a terpenů

Metabolické přeměny nejen kanabinoidů, ale i terpenů a ostatních látek probíhají ve dvou fázích. Ve Fázi 1 dochází k metabolizaci především prostřednictvím enzymů cytochromu P 450 (CYP). Dochází zde k oxidačním, redukčním a hydrolytickým reakcím. V následující Fázi 2 jsou produkty kompletně transformovány na hydrofilní sloučeniny, které jsou z těla vyloučeny nejčastěji močí. Mezi produkty patří zejména glukuronové kyseliny, hydroxysloučeniny, soli a karboxylové kyseliny (Baser & Buchbauer 2015).

3.3.2.1 THC

THC se vzhledem ke své lipofilní povaze distribuuje v tukové tkáni, játrech, plicích a slezině (Musshoff & Madea 2006). Při inhalaci se THC dostává během několika sekund do krve a přibližně 90 % je detekovatelných v plazmě (Vandevenne et al. 2000). Biologická dostupnost Δ^9 -THC se však liší v závislosti na hloubce vdechnutí a době zadržení dechu (Pertwee 2005). Při orálním podání je maximum THC v krvi po delší době, přibližně 1–2 hodiny po aplikaci. V některých případech může být pozorováno i několik maxim

(Karschner et al. 2009). U některých jedinců byla pozorována maximální hladina THC v plazmě i o více jak 4 hodiny později (Holister et al. 1981).

THC je metabolizováno hydroxylační a oxidační reakcí, za kterou je zodpovědná skupina enzymů CYP nacházejících se především v játrech. Vzniklý metabolit je 11-hydroxy-THC (11-OH-THC) (Karschner et al. 2009). Existuje značná variabilita v množství 11-OH-THC v plazmě mezi orální aplikací a inhalací, u které je hladina metabolitů mnohem vyšší (Wall et al. 1983). 11-OH-THC je primární psychoaktivní metabolit, který je dále metabolizován na primární inaktivní metabolit 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THCCOOH) (Sharma et al. 2012). THCCOOH je vylučováno jako konjugát glukuronidu (kyselina glukuronová) což je hydrofilní sloučenina snadno vyloučitelná močí. Proto je tento metabolit vylučován především touto cestou, zatímco 11-OH-THC je vyloučeno zejména stolicí (Huestis & Cone 1998). Přibližně 20–35 % metabolitů odchází močí, 65–80 % je vyloučeno stolicí (Wall et al. 1983).

THC prostupuje rovněž placentou do plodu. Hutchings et al. (1989) uvádí, že metabolity THC prostupují přes placentu v mnohem menší míře než samotné THC. Také při orálním podání je koncentrace THC a metabolitů v krvi plodu několikanásobně nižší v porovnání s inhalací.

THC je z těla z 80–90 % vyloučeno během pěti dnů. V moči bylo identifikováno 18 kyselých metabolitů tvořících převážně konjugáty s kyselinou glukuronovou (Halldin et al. 1982).

3.3.2.2 CBD

Farmakodynamika a farmakokinetika kanabidiolu je oproti THC méně prozkoumána z důvodu nižšího zájmu vzhledem k jeho nepsychoaktivnímu působení (Ujváry & Hanuš 2016). Studie na zvířatech dokazují, že CBD je vylučováno z těla v relativně velké míře v nezměněné podobě, nebo jako glukuronový konjugát CBD (Harvey 1991; Hawksworth & McArdle 2004). Ujváry & Hanuš (2016) uvádějí, že množství intaktního CBD je v moči kolem 12 % z celkového množství kanabinoidů. Glukuronid pak tvoří více než 13 %.

Studie na myších provedena Watanabe et al. (2007) ukazuje, že CBD se vlivem kyselého prostředí žaludku může zčásti metabolizovat na psychoaktivní THC a další metabolity.

Nejběžnějšími metabolity jsou hydroxylované 7-COOH deriváty kanabidiolu. Hydroxylová skupina může být na různých uhlících a může jich být i několik současně. CBD je stejně jako THC metabolizováno přes CYP, kde probíhají hydroxylační reakce na několika

místech a následují reakce oxidační. V lidském organismu převažuje oxidace 7. atomu uhlíku a následná hydroxylace na pentylové části (Harvey & Mechoulam 1990). V moči u pacientů trpících dystonií (porucha hybnosti svalů), kterým bylo podáváno CBD, bylo identifikováno 33 různých metabolitů. Dále byly v moči identifikovány i neoxidované kanabinoidy: Δ^8 -THC a Δ^9 -THC, které pravděpodobně vznikly cyklizací CBD (Harvey & Mechoulam 1990). U odlišných organismů bylo identifikováno kolem 100 metabolitů (Harvey 1991),

Výzkumy bioaktivity vybraných metabolitů na zvířatech ukázaly, že 7-COOH-CBD může vyvolat u zvířat mírnou hypotermii a společně se 7-OH-CBD mohou účinně inhibovat defekaci u myši (Fride et al. 2004). Publikace zabývající se bioaktivitou CBD metabolitů u člověka zatím neexistují, ale prokazatelné léčebné účinky CBD zaručují budoucí studie jeho metabolitů (Ujváry & Hanuš 2016).

3.3.2.3 Terpeny

Jeden z nejběžnějších terpenů, α -pinen, je při perorálním podání metabolizován na myrtenol a cis- a trans- verbenol (Ishida et al. 1981) Dále pak může vznikat kyselina myrtenová a další 2 metabolity. Cis-verbenol je nejvíce zastoupený metabolit, jehož maximální koncentrace v moči byla po necelých 2 hodinách od podání. Z toho lze usoudit, že oxidační reakce, které metabolizují α -pinen, probíhají velmi rychle (Schmidt & Göen 2017).

Myrcen je metabolizován *in vivo* při perorálním podání na několik metabolitů, kde 2 z nich jsou glykoly, které jsou dále karboxylovány na kyseliny. Vzniká také uroterpenol, jehož tvorba probíhá přes limonen odvozený z myrcenu vlivem kyselého prostředí v žaludku (Ishida et al. 1981).

Metabolitů limonenu je po orálním podání u člověka více, než 10 (Miyazawa et al. 2002), např. cis- a trans- carveol, perillalkohol, kyselina perilová, limonen-1,2-diol a limonen-8,9-diol. Maximální koncentrace metabolitů byla v krvi a moči po 1–2 hodinách, po 5 hodinách nebyl limonen přítomen vůbec. Oxidace a vyloučení limonenu probíhá velmi rychle a předpokládá se, že metabolismus podobných terpenoidních sloučenin probíhá podobně (Schmidt & Göen 2017).

Metabolické produkty odbourávání linaloolu u myši jsou dihydrolinalool, tetrahydrolinalool a 8-hydroxylinalool, který je dále oxidován na 8-karboxylinalool. Metabolity jsou pak následně převedeny na glukuronidové konjugáty a jsou vyloučeny močí (Chadha & Madyastha 1984). Heinlein & Buettner (2012) uvádí, že při simulované *in vitro* digesti chmele se část geraniolu přemění na linalool, který má silné sedativní účinky.

Dle Pedersena et al. (2003) se geraniol v *in vitro* podmínkách trávicího traktu může přeměnit nejen na linalool, ale i na nerol a α -terpineol. Údaje o farmakokinetice a biologické dostupnosti geraniolu u lidí nejsou k dispozici. Při orální aplikaci u krys dosahovala biodostupnost geraniolu 92 % a maximální hladina v krvi byla naměřena po 30 minutách od aplikace (Pavan et al. 2018).

3.3.3 Synergické účinky kanabinoidů a terpenů

Bylo prokázáno že terpeny a kanabinoidy působí v organismu synergii, tedy že jejich vzájemné působení výrazně zesiluje léčebné účinky konopí oproti podání pouze samostatných látek. Mechanismus synergického účinku však dosud nebyl zcela objasněn. (Weston-Green 2018).

Synergické účinky těchto látek byly pozorovány při různých onemocněních. Kim et al. (2008) uvádí ve své studii silné antimikrobiální účinky silic, zejména limonenu, proti *Propionibacterium acnes*, který je klíčovým patogenem při vzniku akné. Účinky byly mnohem silnější než při použití léku triklosan. Limonen společně s CBD, které se absorbuje transkutánně, by mohly nabídnout komplementární aktivitu při léčbě akné (Russo 2011). Podobné antimikrobiální vlastnosti má také linalool a α -pinen, který má silné antimikrobiální účinky proti *P.acnes* a *Staphylococcus spp.* (Raman et al. 1995). Vzhledem k minimální toxicitě CBD a výše popsanými účinky terpenů, představuje jejich kombinace slibnou léčbu v oblasti akné (Wagner & Ulrich-Merzenich 2009).

Čisté CBD a CBG účinně potlačují MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (Appendino et al. 2008). Köse et al. (2010) zkoumali účinky silic *Sideritis erythrantha*, kde α -pinen představoval majoritní terpen. Silice vykazovaly stejné účinky jako vankomycin. Vzhledem k možnostem produkce CBG ve vybraných chemotypech konopí (De Meijer et al. 2009) s minimálním množstvím THC, by mohl představovat extrakt z těchto rostlin obsahujících také pinen, nové a bezpečně antiseptikum. (Russo 2011).

Aktivní účinky kanabinoidů, které zmírňují úzkost, poruchy spánku, nebo bolesti, mohou být synergicky zesíleny přítomností terpenů, zejména pak linaloolu, myrcenu, nebo karyofylenu (Russo et al. 2007).

Citrusová vůně způsobená limonenem snižuje depresi (Komori et al. 1995) a společně s fyto-kanabinoidy může představovat silné antidepresivum (Russo 2011).

Studie na lidech prokázaly, že dobrovolníci, kteří kouří konopí s vyšším obsahem CBD, mají nižší potřebu užívat jiné drogy než lidé, kteří kouřili konopí s nižším obsahem CBD

a vyšším obsahem THC. Kanabidiol může potenciálně snižovat závislost na jiných drogách (Morgan et al. 2010).

Z dalších několika studií, které zkoumaly závislost na cigaretách, vyplývá, že terpeny jako je myrcen, pinen, nebo karyofylen, mohou společně s CBD snižovat závislost na nikotinu. Karyofylen pak může být účinným nástrojem proti závislosti na kokainu (Russo 2011).

3.3.4 Trávicí trakt člověka

Zabývat se detailním popisem trávicího ústrojí člověka by bylo nad rámec této práce. Proto zde budou popsány především enzymy.

Enzymy, kterými nejen člověk tráví potravu, lze zařadit do 3 skupin. Proteázy, které štěpí bílkoviny, lipázy, které rozkládají tuky a nakonec enzymy, které štěpí sacharidy (Whitcomb & Lowe 2007). Trávení potravy začíná již v ústní dutině, jejíž úlohou je mechanické narušení potravy na menší částice žvýkáním. Potrava je dále smíchána se slinami, které obsahují vodu, enzymy a minerální látky (Pedersen et al. 2002). Hlavním enzymem v dutině ústní je slinná amyláza (ptyalin), kterou je započat proces štěpení sacharidů (zejména škrobu) až na disacharid maltózu (Robyt & French 1970). Slinná α -amyláza je považována za málo významnou při trávení, jelikož je rychle inaktivována v kyselém prostředí žaludku. Optimální pH pro tento enzym je kolem 6,8 (Rosenblum et al. 1988). Její přítomnost však pomáhá chránit zubní sklovinu před bakteriemi (Scannapieco et al. 1993). Dalším enzymem je linguální lipáza, která rozkládá malou část tuků v ústní dutině a žaludku (Hamosh & Burns 1977).

Z dutiny ústní se potrava dostává do žaludku, kde je proces trávení mnohem významnější. Hlavním enzymem v žaludku je pepsin, který štěpí bílkoviny. Je vylučován jako neaktivní pepsinogen, který je autokatalyticky aktivován na pepsin. Aktivaci na pepsin zajišťuje i kyselé prostředí žaludku ($\text{pH} \pm 2,4$) určené přítomností kyseliny chlorovodíkové. Samotný lidský pepsin je bílkovina složená z několika set aminokyselin, jejichž spektrum je například z 84 % shodné s prasečím pepsinem (Fujinaga et al. 1995). Kyselina chlorovodíková (HCl) má v žaludku několik důležitých funkcí. Kromě aktivace pepsinu zajišťuje účinnou bariéru proti bakteriím, které v kyselém prostředí nepřežijí. Dále zvyšuje absorpci vápníku a železa a taktéž se podílí na denaturaci bílkovin (Smith 2003).

Studie na krysách prokázala, že konopí a kanabinoidy mohou snižovat prostřednictvím působení na CB1 receptory sekreci HCl v žaludku a mohou tak účinně chránit sliznici před poškozením. Tohoto poznatku by se dalo využít k léčbě gastroezofageálního refluxu (Abdel-Salam 2016).

V tenkém střevě dále probíhá trávení potravy pomocí řady enzymů. Kyselé prostředí z žaludku je neutralizováno solemi, zejména hydrogenuhličitanu (HCO_3^-) na hodnotu pH kolem 7 (Gelfond et al. 2013). Neutrální, nebo mírně bazické pH je důležité pro správnou aktivitu enzymů, které mají kolem této hodnoty nejvyšší aktivitu. Optimum pro pankreatické enzymy je pH 7–8 (Berdutina et al. 2000).

Hlavní část trávení v tenkém střevě probíhá v duodenu. Chymus je smíchán s enzymy a žlučovými solemi a živiny jsou postupně štěpeny na menší jednotky, které jsou následně vstřebávány do krve, nebo lymfy (Schulze 2006). Enterocyty tenkého střeva produkují různé enzymy, které štěpí především malé molekuly vzniklé již trávením v žaludku, nebo natrávením pankreatickými enzymy. Mezi tyto enzymy patří aminopeptidázy, karboxypeptidázy, nebo endopeptidázy (Walker 2004). Enterocyty tvoří také enzymy štěpící disacharidy, jako je laktáza, nebo maltáza (Levin 1994). Enzymy tvořené slinivkou břišní (*Pankreas*) se podílí na štěpení všech živin. Bílkoviny a peptidy jsou štěpeny trypsinem, chymotrypsinem, elastázami a karboxypeptidázami. Všechny tyto enzymy se vyskytují v několika formách, např. karboxypeptidáza A1, A2, A3, B1 a B2. Produktem jsou pak oligopeptidy, které jsou dále štěpeny, nebo samotné aminokyseliny (Whitcomb & Lowe 2007). Mezi enzymy, které štěpí lipidy v duodenu, se řadí pankreatická lipáza, kolipáza, fosfolipáza a karboxy-esterová lipáza. Posledně zmíněný enzym může být označen jako cholesterol-esteráza. Štěpí i esterové vazby ve vitamínech, nebo galaktolipidy (Andersson et al. 1995). O štěpení sacharidů se stará pankreatická α -amyláza, která je jedinou glykosidázou produkovanou slinivkou (Stiefel & Keller 1973). Sekvence aminokyselin, ze kterých je tvořena slinná α -amyláza, je z 96 % shodná s pankreatickou amylázou (Abrams et al. 1987). Produktem štěpení polysacharidů jsou dextriny, které jsou dále štěpeny maltázou a isomaltázou na glukózu (Sitrin 2014).

Žlučové soli jsou další nezbytnou komponentou při trávení potravy v tenkém střevě. Jedná se o steroidní detergenty vznikající z cholesterolu, které jsou ukládány ve žlučníku (Maldonado-Valderrama et al. 2011). Kromě emulgace lipidů mají také antimikrobiální vlastnosti (Inagaki et al. 2006), nebo napomáhají denaturaci proteinů (Gass et al. 2007). Nejvíce zastoupené žlučové soli u člověka jsou: cholát, chenodeoxycholát a deoxycholát. Běžně jsou konjugovány s glycinem (75 %), nebo taurinem (25 %), který je derivátem aminokyseliny (Maldonado-Valderrama et al. 2011). Žlučové soli také adsorbují ostatní látky, jako jsou například proteiny, z povrchu lipidů. To umožňuje pankreatickým lipázám zahájit proces lipolýzy (Gargouri et al. 1984). Jelikož jsou kanabinoidy a terpeny hydrofobní látky a jejich

vstřebatelnost je spjata se vstřebáváním lipidů, je úloha žlučových solí při orální aplikaci konopí a jiných lipofilních léků důležitá (Mukhopadhyay & Maitra 2004).

Trávení je velmi složitý proces, zkoumání biodostupnosti je ale důležité z hlediska různých odvětví, proto byly vyvinuty *in vitro* trávící modely.

3.3.5 Trávící modely *in vitro*

Digestivní modely *in vitro* jsou široce používány ke studiu strukturálních změn, stravitelnosti a uvolňování potravinových složek v simulovaném gastrointestinálním traktu. Nicméně výsledky těchto testů se velmi často liší od modelů *in vivo*. Především kvůli obtížným simulacím fyzikálně-chemických a fyziologických vlastností vyskytujících se u trávících soustav zvířat a lidí (Hur et al. 2011).

Studie *in vivo* jsou časově náročné a velmi nákladné na provedení, což je důvod, proč bylo věnováno značné úsilí na vývoj *in vitro* metod digesce (Boisen & Eggum 1991). *In vitro* digestivní modely poskytují alternativu ke zvířecím a lidským modelům, oproti kterým jsou rychlejší a méně nákladné (Coles et al. 2005). Nespornou výhodou *in vitro* systémů je otázka etiky, která se těchto modelů, na rozdíl od *in vivo* modelů, netýká (Minekus et al. 2014).

Simulované modely zahrnují zpravidla orální, žaludeční a intestinální fázi, příležitostně mohou zahrnovat i fázi tlustého střeva spojenou s fermentací. Pro co nejpřesnější napodobení *in vivo* modelů je nezbytný přídavek enzymů a solí. Neméně důležitá je korekce pH a čas trávení (Minekus et al. 2014).

In vitro digestivní modely se dělí na dynamické a statické. Dynamické modely jsou velmi komplexní a jsou nejbližší k modelům *in vivo*. Zpravidla bývají kontrolovány počítačem, nicméně jejich pořizovací a provozní náklady jsou vysoké a jejich obsluha je náročná na personál i na čas. Trávící tekutiny je třeba dodávat do modelů kontinuálně a slouží ke stanovení menšího počtu vzorků (Alminger et al. 2014). Tyto modely mohou nepřetržitě simulovat peristaltiku orgánů trávícího traktu a dále fyzikální a chemické podmínky včetně pH. Existuje několik typů dynamických modelů, které se liší provedením a účelem použití. Dynamický žaludeční model (Dynamic gastric model, DMG) vyvinutý v Anglii slouží k simulaci vyprazdňování žaludku (Vardakou et al. 2011). Žaludeční simulátor (Human Gastric Simulator, HGS) vyvinutý na Kalifornské univerzitě efektivně napodobuje žaludeční peristaltiku a slouží především k výzkumu fytochemikálií (Palafox-Carlos et al. 2011). TNO gastrointestinální model (TIM-1) vyvinutý v Nizozemsku slouží ke stanovení času průchodu tráveniny tenkým střevem a k identifikaci změn pH (Minekus et al. 1995).

Statické modely jsou oproti dynamickým modelům jednodušší a používají se častěji (Hur et al. 2011). K výhodám patří především rychlost provedení, která je v řádu hodin, menší náklady na vzorky a také nižší nároky na personál. To umožňuje měřit paralelně velký počet vzorků současně. Statické modely jsou také poměrně snadno a rychle reprodukovatelné (Minekus et al. 2014). Statické *in vitro* digestivní modely však neberou v úvahu fyziologické pochody, složitou dynamiku trávicího traktu, nebo změny pH a vylučování enzymů v závislosti na příjmu potravy (Isenman et al. 1999).

Statické modely se používají pro určení biodostupnosti a stravitelnosti například u léčiv (Kaukonen et al. 2004), mykotoxinů (Versantvoort et al. 2005), tuků (Larsson et al. 2012), polyfenolů (Tavares et al. 2013), antioxidantů (Girgih et al. 2011) a mnoha dalších látek. Při simulovaném trávení je složení trávicích šťáv variabilní v závislosti na typu tráveniny. Také čas trávení se může lišit v závislosti na potravě (Hur et al. 2011).

Orální fáze je nejkratší, zpravidla trvá do dvou minut. Objem vzorku a roztoku elektrolytů se doporučuje v poměru 1:1 při teplotě 37 °C, která by měla být udržována po celou dobu simulace trávení. Dále se může přidat α -amyláza (Minekus et al. 2014). Gastrická fáze může trvat v řádu minut až hodin dle typu potraviny. Důležitým faktorem je pH, které by mělo být kolem hodnoty 1,8–3,2. Toho je dosaženo přidávkem HCl. Při těchto hodnotách dosahuje enzym pepsin nejvyšší aktivity (Jensen-Jarolim & Untersmayr 2006). Délka simulované *in vitro* intestinální fáze se opět liší v závislosti na typu potraviny. Také použití enzymů je variabilní u různých typů potravin. Například u trávení flavonoidů z různých druhů ovoce a zeleniny se požívá pouze pepsin v gastrické fázi a žlučové soli a pankreatin ve fázi intestinální. Enzym α -amyláza se používá především u potravin obsahující sacharidy (Hur et al. 2011).

3.4 Léčebné účinky konopí

Začátky zájmu o konopí jako léčebného přípravku se v Evropě datují do poloviny 19. století, kdy byly dostupné tinktury, nálevy, či extrakty z této byliny. Samotný výzkum látek na lékařské úrovni začal v 60. letech 20. století s indentifikací chemické struktury některých komponent. Zájem o konopí a jeho využití v medicíně byl znovu obnoven v 90. letech s popisem endokanabinoidních receptorů a jejich funkce. V roce 2005 vznikla v Kanadě mezinárodní laboratoř, která se zabývá výzkumem konopí a jeho účinků. Od této doby se datuje nový cyklus pro výzkum a využívání konopí a jeho derivátu v oblasti medicíny, jelikož jsou

struktura chemických sloučenin a mechanismy účinků z velké části objasněny a účinnost a bezpečnost konopných látek je vědecky podložena (Zuardi 2006).

Výzkum farmakologických účinků jak přírodních, tak i syntetických kanabinoidů je v posledních letech velmi intenzivní a stále se rozšiřuje. V klinické praxi je používání kanabinoidů stále poměrně omezené. Tato situace je dána především zákony v daných zemích, které často neumožňují indikovat konopí jako léčebný prostředek. Počet studií, které se zabývají léčebnými účinky konopí není mnoho, i když jich přibývá. Avšak závěry zveřejněných studií svědčí o léčebném potenciálu konopí v mnoha směrech, jako je zvýšená chuť k jídlu u lidí, kteří mají problém s příjmem potravy, mírní neuropatickou bolest, nebo pomáhá pacientům s roztroušenou sklerózou, či zeleným zákalem. Předpokládá se, že konopí přinese další nové léčebné možnosti v široké oblasti chorob (Kršiak 2012).

Trend legalizace konopí pro léčebné účely je v těchto letech na vzestupu a sním i počet výzkumů a studií v oblasti farmaceutického využití (Sahlem et al. 2018).

3.4.1 Endokanabinoidní systém

Funkce kanabinoidů v těle byla po dlouhou dobu velká záhada. Předpokládalo se, že účinky těchto látek působí na lipidovou vrstvu pokrývající nervová vlákna podobně jako u účinků alkoholu (Mioviský et al. 2008).

Endokanabinoidní systém (ES) byl objeven roku 1988 v plazmatických membránách myších mozků (Devane et al. 1988). Systém se v lidském těle skládá z endokanabinoidů, kanabinoidních receptorů, jejich endogenních ligandů a proteinů, které jsou zodpovědné za jejich syntézu a degradaci (Matsuda et al. 1990).

Společně s ES byl také objeven kanabinoidní receptor CB1. Nejprve byl popsán v centrální nervové soustavě (CNS), následujícími výzkumy však bylo zjištěno, že receptor CB1 je přítomen i v jiných částech lidského těla. Receptory nejsou v těle rozmístěny rovnoměrně. Heterogenní zastoupení je pak zodpovědné za účinky pouze v místě lokace receptoru (Mechoulam & Hanuš 2000).

Lokace receptorů CB1 v mozku je především v čichovém centru, mozečku, hippokampu, bazálních gangliích, kůře mozkové a amygdale. Tato centra jsou zodpovědná za paměť, smyslové vnímání, vnímání bolesti, posturální kontrolu a další důležité pochody v lidském těle. Dále jsou pak receptory přítomny v játrech, plicích, v tukové tkáni, kůře nadledvin, srdci, trávicím traktu a v podstatě ve většině částí lidského těla (Marco & Viveros 2009). Roku 1993 byl objeven další kanabinoidní receptor, který dostal označení CB2 (Munro et al. 1993). Receptory CB1 i CB2 jsou spřaženy s G-proteinem. Výskyt receptoru CB2 je v mozku nižší

nežli u CB1. Významné množství receptorů CB2 je prokázáno v mikroglíích a astrocytech. Dále jsou receptory CB2 hojně exprimovány v buňkách imunitního systému, například lymfocyty B a T, monocyty a makrofágy (Iannotti et al. 2016). V těchto buňkách mohou potlačit tvorbu prozánětlivých cytokinů (Jean-Gilles et al. 2015). Účinky kanabinoidů jsou ve většině případů zprostředkovány kanabinoidními receptory v CNS (Howlett et al. 2002).

Přírozenými agonisty receptorů CB1 a CB2 jsou endokanabinoidy, které si živočišná tkáň sama syntetizuje (Hanuš 2009). Jedná se o malé lipofilní molekuly, které jsou řazeny mezi neurotransmitery (Fisar 2009).

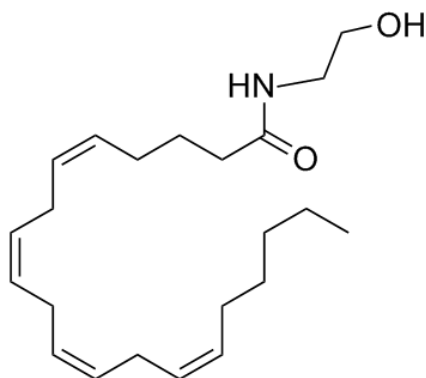
Prvním objeveným endokanabinoidem byl roku 1992 anandamid (Obrázek č. 5). Jde o derivát kyseliny arachidonové (KA) s celým názvem N-arachidonylethanolamid (AEA) a poprvé byl izolován z mozku prasete (Devane et al. 1992). AEA se stejně jako THC váže na stejné vazebné místo kanabinoidního receptoru (kompetitivní vazba) a vykazuje tak řadu farmakologických i psychických účinků v organismu (Rakhshan et al. 2000). O tři roky později byl identifikován další endogenní ligand s názvem 2-arachidonoylglycerol (2-AG). Při injekčním podání 2-AG potkanům u nich způsobuje stejné behaviorální efekty, jako Δ^9 -THC *in vivo* (Mechoulam et al. 1995).

Po objevení výše zmíněných endokanabinoidů byly popsány ještě další sloučeniny lipidové povahy, které se označují jako endokanabinoidy. Jedná se především o deriváty polyenové kyseliny arachidonové. Mezi další endokanabinoidy patří například noladin ether, který byl izolován z mozku prasete (Hanuš et al. 2001).

Endokanabinoidy AEA a 2-AG nejsou skladovány v buňkách, ale jejich syntéza a uvolnění probíhá v závislosti na fyziologickém, či jiném podmětu (Bisogno et al. 1997). AEA je syntetizován enzymatickou cestou z kyseliny arachidonové závislou na membránově vázaných fosfolipidech. Přesněji se jedná o enzymatickou hydrolýzu molekuly N-arachidonoyl fosfatidyletanolaminu (Liu et al. 2006). Biosyntéza 2-AG ve většině případů probíhá hydrolýzou diacylglycerolu (DAG) za účasti selektivních DAG lipáz DAGL α a β (Bisogno et al. 2003).

Pokud je do organismu dodáno THC, naváže se na kanabinoidní receptory v mozku. Za normálních podmínek, kdy není dodán jiný kanabinoid z vnějšího prostředí, se na tyto receptory váží endokanabinoidy, které si tělo samo produkuje. Při přívodu THC jsou endokanabinoidy vytěsněny z vazby na receptor a nahrazeny THC. Dlouhodobé užívání THC vede k útlumu produkce endogenních kanabinoidů (Kalina et al. 2003).

CBD v endokanabinoidním systému interaguje s transportérem pro anandamid a inhibuje enzym amidhydrolázu mastných kyselin (FAAH), která se podílí na odbourávání a zpětném vychytávání endogenních kanabinoidů (Di Marzo & Piscitelli 2015).



Obrázek č. 5: Strukturní vzorec anandamidu (medchemexpress.com 2019)

3.4.2 Současné využití konopí v medicíně

V posledních letech proběhla a stále probíhá řada výzkumů, které ukazují, že konopí má velký potenciál k léčbě širokého spektra různých nemocí (Newton-Howes 2017). Konopí a přípravky z něj vyrobené se používají po několik tisíciletí v oblasti medicíny a jsou velmi oblíbené dodnes. S rozvojem výzkumu kanabinoidů a šlechtění nových, více potentních odrůd se konopné přípravky používají na stále větší množství zdravotních obtíží a závěry lékařských výzkumů předpokládají, či potvrzují stále nové využití této byliny v oblasti farmakologie (Chandra et al. 2017). Již ve starověké Číně věděli, že konopí má silné antimikrobiální a analgetické účinky. Přibližně do poloviny 20. století byly všechny přípravky z konopí volně dostupné jak v evropských, tak amerických lékárnách (Rätsch 1994). První zlom nastal během 2. Světové války, kdy v USA bylo konopí vyškrtnuto ze seznamu povolených farmaceutických přípravků (Samuel 2016). Poté byla v roce 1961 v USA přijata Jednotná úmluva Organizace spojených národů o omamných látkách (v originále The United Nations Single Convention on Narcotic Drugs), která zařadila konopí do I. skupiny narkotik, na která vzniká silná závislost. Ve stejné skupině se nacházel například heroin, nebo opium. Látky v této skupině se mohly používat pouze pro výzkum, který i tak byl velmi omezený. Tento zákon přijala i Česká republika a dalších více než 100 zemí. V této době probíhaly výzkumy konopí jen v malé míře a zlom přišel až v 90. letech (Ballotta et al. 2008).

Konopí a přípravky z něj vyrobené je možno použít při léčbě nebo zmírnění příznaků u řady nemocí. Mezi nemoci na které konopí prokazatelně léčí, nebo zmírňuje příznaky,

patří roztroušená skleróza, Alzheimerova choroba, AIDS, rakovina, epilepsie, Parkinsonova choroba, zelený zákal, astma, nebo různé projevy bolesti (Rätsch 2012).

Konopné substance lze do organismu dostat v mnoha formách. Buď přímo čerstvou bylinu, nebo ve formě extraktu, tinktury, masti, obkladu, čaje, nebo čípku. Velmi běžnou cestou je pak kouření sušených květů, nebo přídavek květů či extraktu do pokrmu (Conrad 2001).

K nejobsáhlejšími studiím, které se zabývají konopím a léčbou, patří práce z roku 2013. Více než 900 pacientů ze 31 zemí, přičemž nejvíce respondentů (38,5 %) bylo z USA, uvedlo 5 nejčastějších symptomů, na které je konopí předepisováno. Jednalo se o chronickou bolest (29,2 %), úzkost (18,3 %), ztrátu chuti, nebo váhy (10,7 %), depresi (5,2 %) a nespavost, nebo spánkové poruchy (5,1 %). Majoritní část (91,7 %) respondentů uvedla, že konopí kouří, či vaporizují (Hazeckamp et al. 2013).

V Příloze č. 1 jsou popsány některé nemoci, např. Alzheimerova choroba, rakovina, nebo epilepsie, na které má užití konopí prokazatelně pozitivní vliv.

3.5 Konopné produkty

Konopné potraviny (v angl. edibles) jsou dle Barruse et al. (2016) definovány jako potraviny s přídavkem konopného extraktu, ale mohou obsahovat i sušené konopné květy (Giombi et al. 2018). Jsou dostupné v různých formách, jako jsou bonbóny, gumové cukrovinky, čokolády, pastilky, pečivo nebo nápoje a mohou být připravovány doma, nebo komerčně. Obecně platí, že výrobky s přídavkem konopí se konzumují více v zemích, kde je konopí už nějakou dobu legalizováno pro léčebné účely (Borodovsky et al. 2016).

Státy EU mají své vlastní zákony, kterými si stanoví množství THC ve výrobcích. Dle legislativy EU nesmí překročit hladina THC ve výrobcích 0,2 % (Lachenmeier & Walch 2006), ale záleží na zákonech jednotlivých členských zemí, kde mohou být velké rozdíly. V Itálii, nebo Belgii je povolen prodej potravin z konopí, ale jde především o olej ze semen, nebo jiné výrobky ze semen. Zde jsou limity THC v řádu mg/kg potravin. Jiné potraviny, nebo nápoje mají limity ještě přísnější. Opakem je Nizozemsko, kde ve výrobcích není určena žádná horní hranice obsahu THC, včetně výrobků ze semen. Konopné výrobky je možné bez postihu konzumovat na území Nizozemska, jejich vývoz je ovšem nelegální (Sarmiento et al. 2015).

V USA došlo v posledních letech k uvolnění represivních zákonů, a některé státy konopí legalizovaly pro léčebné i rekreační užití. Mezi státy, kde je legální trh s konopím i pro rekreační účely, patří Colorado, California, Washington, Oregon, nebo Nevada. Medicinální

konopí je povolené pouze ve státech Florida, Maine, Montana, Arizona, nebo Ohio (Leung et al. 2018).

Ve státech, kde zákony umožňují legální trh s konopnými potravinami, se tyto výrobky těší velké oblibě. V rozsáhlé studii, které se zabývala konzumací potravin obsahujících konopí, je uvedeno, že téměř 60 % uživatelů bylo spokojeno s užíváním konopných potravin. Pouze 13 % uživatelů uvedlo nějaké negativní zkušenosti a zbytek měl neutrální názor ohledně potravin (Lamy et al. 2016).

Z obsáhlé studie z roku 2016 provedené ve Spojených státech amerických vyplývá, že téměř třetina dospělých obyvatel konzumuje konopí ve formě potraviny, či nápoje (Schauer et al. 2016). Další studie ukazují, že jedlé produkty jsou oblíbené zvláště u uživatelů léčebného konopí (Pacula et al. 2016).

Užívání ve formě potravin přináší několik výhod. Za prvé je to diskrétnost a pohodlnější způsob konzumace. Druhou výhodou je příjemnější a klidnější stav po užití oproti kouření. A třetí výhodou je nižší množství toxických látek, které vznikají při kouření (Barrus et al. 2016) a snižuje se tak zdravotní riziko spojené s kouřením (Murphy et al. 2015). K dalším výhodám dle sdělení konzumentů v USA patří příjemná chuť výrobků, a absence zápachu, který vzniká během kouření (Giombi et al. 2018).

Jako nevýhody při konzumaci konopných produktů uvádí Giombi et al. (2018) zpožděný efekt, který navíc může být velmi variabilní, a tudíž i silný a nepříjemný. Další nevýhodou může být nevhodná velikost balení a porce, popřípadě nerovnoměrně zastoupené množství konopných látek v dané potravíně.

Z několika studií však vyplývá, že velký počet uživatelů léčebného konopí dává přednost kouření před perorálním podáním. Důvodem je vyšší výskyt negativních odpovědí při vyšších dávkách THC (Calhoun et al. 1998; Haney 2007). Například u pacientů s HIV/AIDS, kteří zkoušeli užívat jak konopí (kouření), tak dronabinol (orálně), 93 % pacientů dalo přednost kouření (Ware et al. 2003).

Rozsáhlý trh s konopnými produkty v USA s sebou přináší i problémy s označováním produktů a deklarací látek v nich obsažených. Ze 75 zakoupených produktů v Californii a Washingtonu jich bylo pouze 17 % správně označeno. Majoritní část produktů neobsahovala deklarované množství kanabinoidů (60 %) a zbylé produkty (23 %) obsahovaly více látek, než bylo deklarováno na obalu (Vandrey et al. 2015).

4 Materiál a metody

Konopné extrakty použité k analýze pochází z odrůdy konopí s názvem McLove, která byla vypěstována ve spolupráci České zemědělské univerzity v Praze (ČZU) a firmou Meclovská zemědělská a.s. v roce 2017.

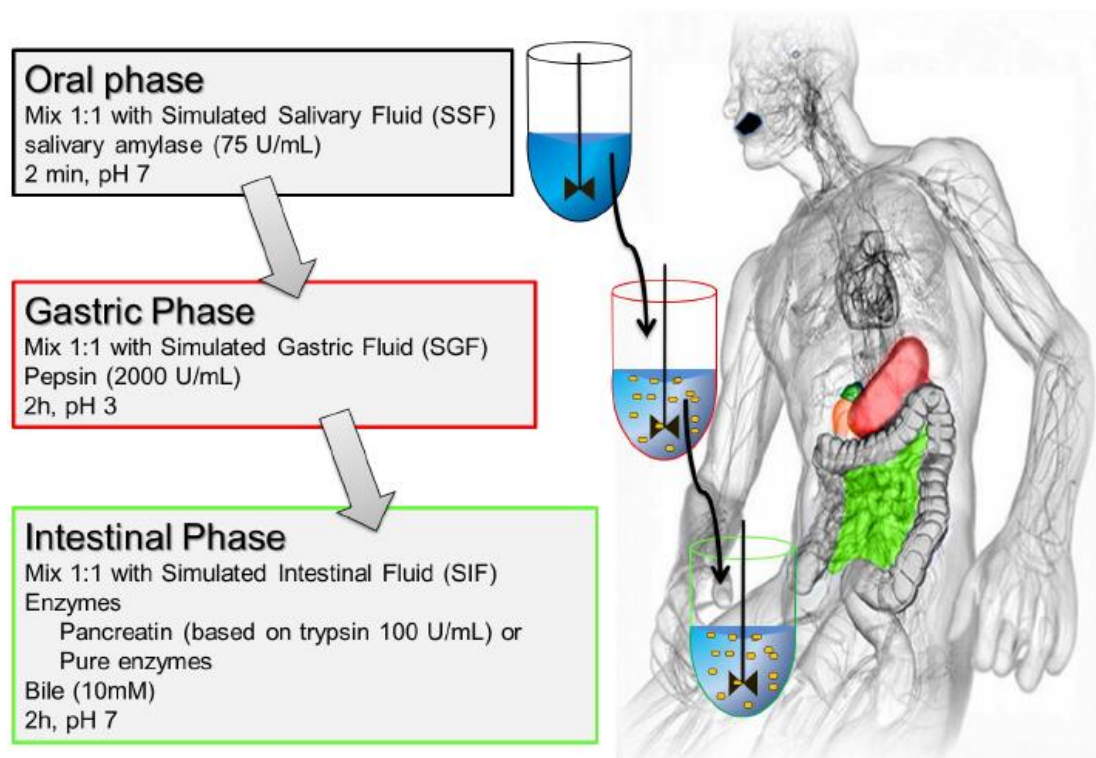
V odborné literatuře je dostupných několik metod pro trávení potravin *in vitro*. Zvolenou metodiku vypracoval Minekus et al. (2014). Tato standardizovaná metoda zahrnuje detailní simulaci trávicího traktu člověka, včetně peristaltiky. Byly použity trávicí enzymy, které jsou přítomné v žaludku a tenkém střevě, pouze u pepsinu byl zvolena jiná koncentrace a slinná α -amyláza byla vynechána. Dále byly přidány elektrolyty, vyskytující se běžně v trávicích šťávách. K přiblížení se podmínkám *in vivo* bylo v jednotlivých částech upraveno pH na fyziologické hodnoty člověka.

4.1 Konopný extrakt

Extrakce sušených konopných květů proběhla na katedře kvality a bezpečnosti potravin Fakulty agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů. Homogenizovaná sušina byla extrahována čtyřmi různými způsoby: superkritickou fluidní extrakcí (SFE), etanolem (etOH), butanem (BUT) a dimetyléterem (DME). Extrakty byly skladovány v mrazáku při teplotě -28°C . Extrakt získaný použitím SFE měl sirupovitou konzistenci i během skladování v mrazu, světle hnědou barvu a velmi intenzivní vůni. Zbylé extrakty byly při nízké teplotě tvrdé konzistence, tmavé barvy a vůně byla slabší než u SFE. Při pokojové teplotě (24°C) jsou konopné extrakty viskózní, lepivé a vůně je intenzivnější.

4.2 *In vitro* trávicí model

Digestivní model použitý ke stanovení kanabinoidů a terpenů se skládal ze tří částí napodobujících složení trávicích tekutin u člověka. První roztok napodoboval složení elektrolytů v dutině ústní (Simulated Salivary Fluid – SSF), druhý roztok trávicí šťávy v žaludku (Simulated Gastric Fluid – SGF) a třetí trávicí šťávy v tenkém střevě (Simulated Intestinal Fluid – SIF). Postup při pokusu je schématicky znázorněn na Obrázku č. 6.



Obrázek č. 6: Schéma znázorňují průběh *in vitro* digesce (Minekus et al. 2014)

4.2.1 Příprava zásobních roztoků

K přípravě zásobních roztoků potřebných k simulaci gastrointestinálního traktu byly použity chemikálie (Tabulka výrobců viz Příloha č. 2) a koncentrace, které uvádí Minekus et al. (2014). Pro simulaci trávicích tekutin byly použity roztoky popsány v kapitole 4.2. Množství a koncentrace solí jsou uvedeny v Tabulce č. 2, výrobci chemikálií v Tabulce č. 7 (viz Příloha č.2). K přípravě roztoků byla použita deionizovaná voda.

Zásobní roztoky byly skladovány v 50 ml falkonkách v mrazáku při teplotě $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pro přípravu SSF, SGF a SIF byly zásobní roztoky vytemperovány na teplotu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ a poté z nich bylo odpipetováno potřebné množství do 100ml odměrných baněk, které se doplnily deionizovanou vodou po rysku.

Tabulka č. 2: Množství a koncentrace zásobních roztoků solí

Složka	Koncentrace zásobního roztoku		SSF		SGF		SIF	
			pH 7		pH 3		pH 7	
			Objem roztoku*	Konc. vSSF	Objem roztoku*	Konc vSGF	Objem roztoku*	Konc. vSIF
	g l ⁻¹	mol l ⁻¹	ml	mmol l ⁻¹	ml	mmol l ⁻¹	ml	mmol l ⁻¹
KCL	37.3	0.5	3.775	15.1	1.725	6.9	1.7	6.8
KH ₂ PO ₄	68	0.5	0.925	3.7	0.225	0.9	0.2	0.8
NaHCO ₃	84	1	1.7	6.8	3.125	25	10.625	85
NaCl	117	2	—	—	2.95	47.2	2.4	38.4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	30.5	0.15	0.125	0.5	0.1	0.1	0.275	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	48	0,5	0.015	0.06	0.125	0.2	—	—
Korekce pH	mol l ⁻¹							
NaOH	1							
HCL	1							

CaCl₂(H₂O)₂ se nepřidává do zásobních roztoků, mohlo by dojít vysrážení. Přidává se až ke směsi trávicích tekutin

	g l ⁻¹	mol l ⁻¹	mmol l ⁻¹	mmol l ⁻¹	mmol l ⁻¹
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	44.1	0.3	1.5 (0.75*)	0.15 (0.075*)	0.6 (0.3*)

Použité zkratky v grafu: SSF – Simulated Salivary Fluid SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid
*Objem zásobního roztoku pro přípravu 100 mL SSF, SGF, nebo SIF. Uvedené koncentrace jsou 1,25x vyšší pro jednodušší přípravu, jelikož je třeba do roztoků přidat také enzymy, kyselinu pro úpravu pH a CaCl₂(H₂O)₂. Finální koncentrace je dosaženo přidáním deionizované vody (Minekus et al. 2014).

4.2.2 Zásobní roztoky konopných extraktů

Konopné extrakty byly odváženy na laboratorních vahách do 20ml šroubovacích vialek a naředěny 96% potravinářským etanolem (Penta, ČR) na koncentraci 40 mg ml⁻¹.

4.3 In vitro trávení

Pro přípravu vzorků na simulovanou digesci byly použity 20ml šroubovací vialky. Vzorky byly inkubovány v inkubátoru při teplotě 37 °C a byly míchány za použití teflonového magnetického míchadla. Enzymy byly smíchány s vytemperovanými roztoky SGF a SIF vždy těsně před přidáním těchto roztoků ke vzorku. Všechny vzorky byly připraveny vždy ve třech opakováních, současně byl měřen i slepý vzorek bez přídavku extraktu.

4.3.1 Slinná a gastrická fáze

Půl mililitru zásobního roztoku konopného extraktu bylo smícháno se 2 ml SSF a po 2 minutách se ke vzorku přidaly 2 ml SGF smíchaných s pepsinem (601 U mg^{-1} , Sigma) o koncentraci 1250 U mL^{-1} . Korekce pH na hodnotu 3 se provedla přidavkem 1 M HCl ($94 \mu\text{l} \pm 5 \mu\text{l}$). Poté se do vzorku přidal $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ a deionizovaná voda na konečný objem 5 ml a finální koncentraci pepsinu 500 U ml^{-1} . Následně byl vzorek inkubován 90 minut.

Po uplynutí času inkubace se odpipetoval 1 ml vzorku do falkonky. Natrávený konopný extrakt byl ze SGF extrahován pomocí 3x 2 ml dichlormetanu (DCM, Penta) intenzivním mícháním na vortexu. Po minutě míchání byla organická fáze převedena do 20ml vialky. Extrakt byl odpařen do sucha pod proudem dusíku a uskladněn v mrazáku pro další zpracování.

4.3.2 Intestinální fáze

Po ukončení žaludeční fáze trávení bylo 2,5 ml natrávených roztoků odebráno do čisté vialky, do které bylo následně přidáno 2 ml roztoku SIF s pankreatinem (4 USP mg^{-1} , Sigma) ($1 \text{ USP} = 25 \text{ U}$) o koncentraci 250 U ml^{-1} a žlučovými solemi (Sigma) o koncentraci 25 mM ml^{-1} . Korekce pH nebyla potřeba, jelikož přidavkem SIF se pH zvedlo na hodnotu kolem 7,4. Následně se přidal $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ a vzorek se doplnil deionizovanou vodou na objem 5 ml. Konečná koncentrace ve vzorcích byla u pankreatinu 100 U ml^{-1} a u žlučových solí 10 mM ml^{-1} . Inkubace probíhala 90 minut. Poté se odebral 1 ml vzorku, který byl dále zpracován stejným způsobem, jak je uvedeno v části 4.3.1.

4.4 Příprava vzorku na analýzu

Obsah THC byl stanoven na GC/FID (Agilent Technologies 7890 A). Pro relativní kvantifikaci kanabinoidů byl použit interní standard (IS) tribenzylamin (TBA, Sigma). Profil terpenoidních látek byl prováděn za použití GC-MS (Agilent Technologies 7890 B, Q-TOF). Pro stanovení relativního zastoupení jednotlivých terpenů ve vzorku před a po různých fázích trávení, byly vzorky měřeny pomocí GC/FID (Agilent Technologies 7890 A). Obsah jednotlivých terpenů byl vyjádřen jako procentický podíl z obsahu interního standardu (IS) 1-octen-3-ol (Sigma).

4.4.1 Analýza terpenů

Natrávené extrakty byly rozpuštěny v 0,5 ml hexanu obsahujícím 100 µg/ml IS 1-octen-3-ol, následně byly převedeny do 2ml vialky a předány k analýze. Pro stanovení terpenického profilu (Tabulka č. 3) extraktů byly vzorky měřeny pomocí GC-MS s detektorem Q-TOF (Tabulka č. 4). Identifikace terpenů byla provedena pomocí porovnání jednotlivých látek s retenčními časy a hmotnostními spektry dostupných standardů. V případě že nebyly standardy dostupné, byly terpeny identifikovány na základě porovnání jejich spekter s databází NIST (The National Institute of Standards and Technology) a dále na základě hodnot jejich retenčních indexů. Následně bylo provedeno měření relativního zastoupení vybraných terpenů na GC/FID (Tabulka č. 5)

Tabulka č. 3: Profil stanovených terpenů v konopných extraktech

Terpeny		
α -terpinen	α -bergamoten	β -pinen
C ₂₉	C ₄₂	C ₄₃
Cadinen	camphen	eudesmol
Fencholl	fenchon/terpineol	germacren
Guaiadien	guaiol	humulen
Karyofylen	limonen	linalylacetát
Myrcene	pinanol	selinadien
trans begamoten		

*Terpeny C₂₉, C₄₂ a C₄₃ se nepovedlo identifikovat

Tabulka č. 4: Podmínky analýzy terpenů GC/Q-TOF

Kolona	Agilent 19091 S-433, 30 m x 250 µm x 0.25 µm
Stacionární fáze	HP-5MS 5% Phenyl Methyl Silox
Nosný plyn	helium, 1,0 ml/min, konstantní tok
Režim nástřiku	Split 230 °C
Nástřik	1.5 µl
Dělicí poměr	15:1
Teplotní program	3,5 min při 60 °C, 30 °C/min 300 °C 10 min
Teplota detektoru	230 °C
Emise	5,3 µA
Mód	4 GHz Vysoké rozlišení
Rozsah hmotnosti	55–700
Tempo	1 Hz

Tabulka č. 5: Podmínky analýzy terpenů GC/FID

Kolona	Agilent 19091 S-433, 30 m x 250 μm x 0.25 μm
Stacionární fáze	HP-5MS 5% Phenyl Methyl Silox
Nosný plyn	helium, 1,0 ml/min, konstantní tok
Režim nástřiku	Split 230 °C
Nástřik	1.5 μl
Dělicí poměr	15:1
Teplotní program	3,5 min při 60 °C, 30 °C/min 300 °C 10 min
Teplota detektoru	300 °C
Průtok vodíku	30 ml/min
Průtok vzduchu	400 ml/min
Doplňkový plyn	5 ml/min

4.4.2 Analýza kanabinoidů

Pro stanovení obsahu THC ve vzorcích byla použita modifikovaná metodika UNDOC (2009), podmínky analýzy jsou uvedeny v Tabulce č. 6.

Z hexanového roztoku (viz kapitola výše) bylo odebráno 50 μl a rozpuštěno ve 450 μl metanolu (Penta ČR) obsahujícího interní standard TBA, jehož výsledná koncentrace v roztoku byla 0,5 mg/ml. Vzorky byly převedeny do 2ml vialek a následně analyzovány pomocí GC/FID. Kalibrační standardy byly připraveny dle metodiky UNDOC v rozsahu 0,1–20 % THC.

Tabulka č. 6: Podmínky analýzy THC GC/FID (UNDOC 2009)

Kolona	15 m x 0,25 mm x 0,25 μm
Mobilní fáze	5% Difenyl – 95% Dimethylpolysiloxane
Nosný plyn	dušík 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

4.5 Vyhodnocení dat

Naměřená data byla zpracována v programu Statistica 12, kde bylo využito metody analýzy rozptylu ANOVA a Tukeyho testu.

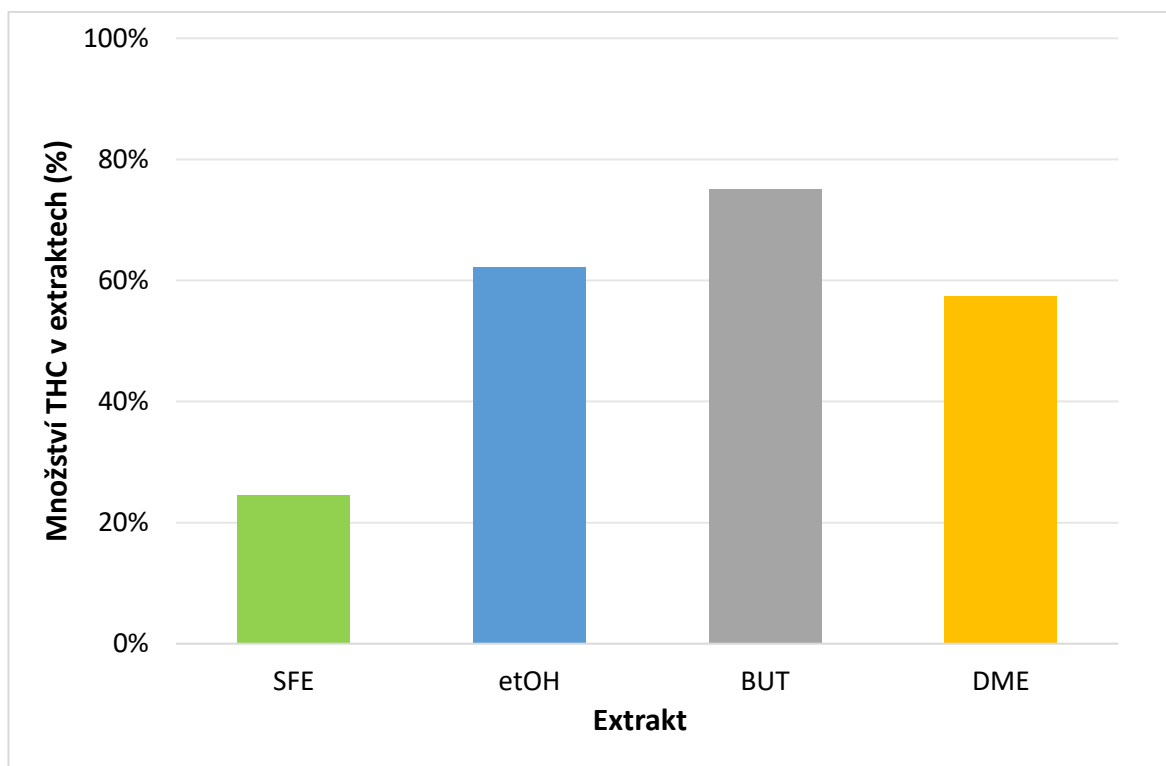
5 Výsledky

Výsledkem analýz bylo vyhodnocení chemických změn a změn dostupnosti kanabinoidů a terpenů ve 4 typech extraktů během trávení v žaludku a tenkém střevě.

5.1 THC

V rámci analýz byla hodnocena změna množství THC během trávení *in vitro* nejprve v žaludku, a poté v tenkém střevě. Tyto údaje byly porovnány s původním množstvím THC v extraktech a současně byly zhodnoceny jednotlivé typy extraktů mezi sebou.

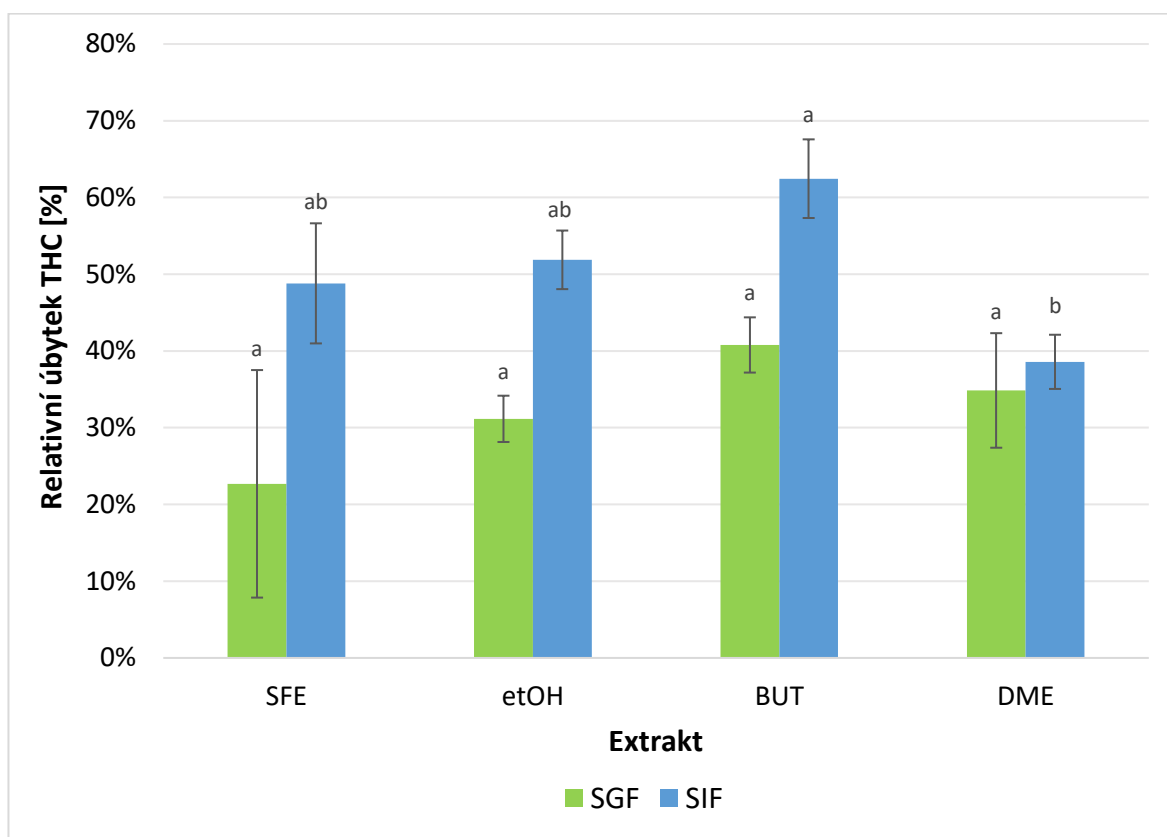
Graf č. 2: Množství THC v extraktech (%)



*Použité zkratky v grafu: SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter

Konopné extrakty se v obsahu THC mezi sebou významně lišily. Nejmenší obsah byl u SFE extraktu 24,59 %, u DME byl obsah 57,47 %, u etOH byl nepatrně vyšší, 62,22 %. Nejvyšší obsah THC byl u BUT extraktu, 75,07 %.

Graf č. 3: Relativní úbytky THC v gastrické a intestinální fázi vztažené k původnímu extraktu (100 %) během trávení (%)



***Použité zkratky v grafu:** SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

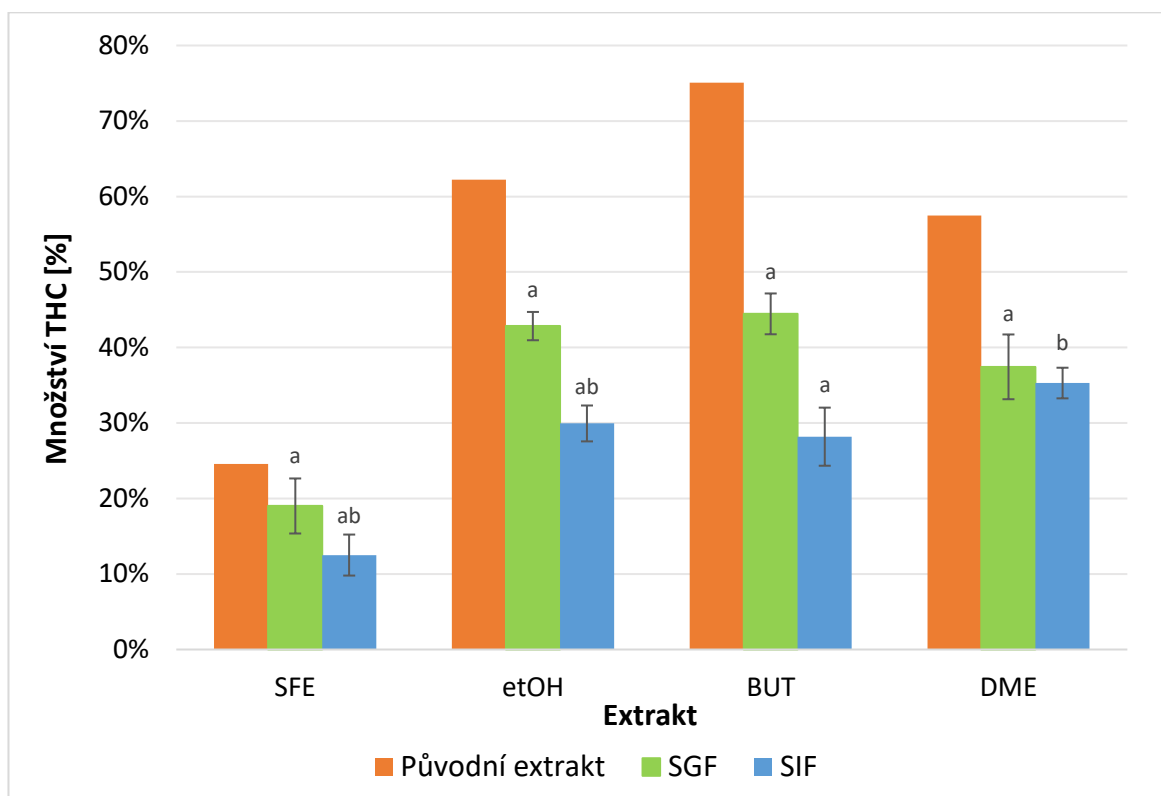
Odlišná písmena (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými vzorky v gastrické a intestinální fázi na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Z Grafu č. 3 vyplývá, že relativní úbytek THC v gastrické fázi byl nejnižší u SFE extraktu, ale mezi jednotlivými měřeními byl významný rozdíl. Úbytek činil $22,69 \pm 14,82$ %. Vzhledem k velkému rozpětí mezi vzorky u SFE nebyl statisticky významný rozdíl v porovnání s ostatními extrakty v gastrické fázi. Úbytek THC byl v gastrické fázi nejvyšší u butanového extraktu a činil $40,78 \pm 3,60$ %.

V intestinální fázi došlo k dalšímu úbytku THC, které bylo nejnižší u DME extraktu ($38,58 \pm 3,53$ %). Naopak nejvyšší ztráty tohoto kanabinoidu byly u butanového extraktu ($62,45 \pm 5,13$ %). Mezi těmito vzorky byl prokázán statisticky významný rozdíl na hladině $\alpha = 0,05$. Úbytky u etanolového a SFE extraktu se mezi sebou lišily pouze nepatrně ($51,87 \pm 3,82$ %, resp. $48,81 \pm 7,83$ %).

Graf č. 4: Srovnání obsahu THC před trávením a po trávení (%)



***Použité zkratky v grafu:** SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

Odlišná písmena (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými vzorky v gastrické a intestinální fázi na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

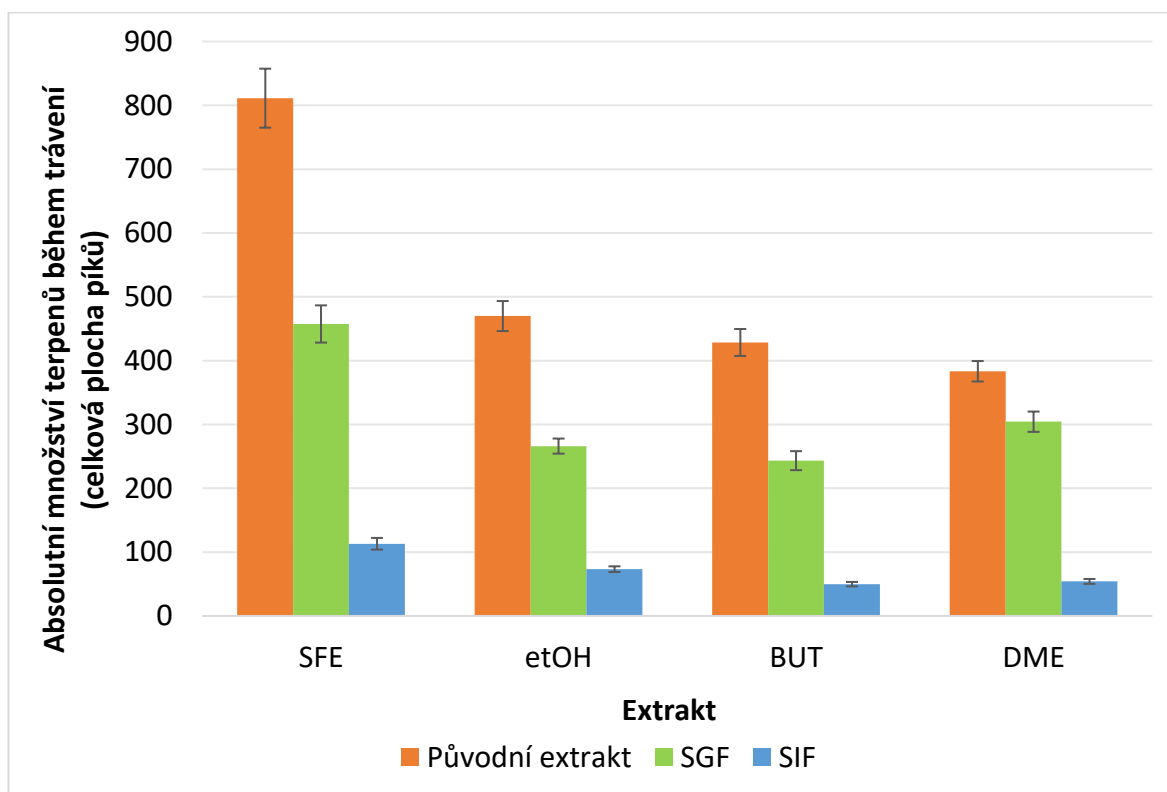
Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Z Grafu č. 4, který znázorňuje srovnání absolutních úbytků THC v gastrické a intestinální fázi s původními extrakty vyplývá, že nejvyšší celkové ztráty během procesů *in vitro* trávení jsou u butanového extraktu, který původně obsahoval nejvíce THC. Ztráta činila $46,88 \pm 3,85$ %. Naopak nejnižší absolutní ztráty byly u extraktu vyrobeného superkritickou fluidní extrakcí a to $12,08 \pm 2,72$ %. Úbytky u etanolového a dimetyléterového extraktu byly $32,28 \pm 2,37$ %, resp. $22,17 \pm 2,03$ %.

5.2 Terpeny

Byl stanoven obsah 22 různých terpenoidních látek v extraktech před a po digesci *in vitro* stejně jako u THC. Sledováno bylo celkem 13 terpenů.

Graf č. 5: Celkové množství terpenů ve vzorcích vztaženo k ploše interního standardu (součet ploch píků)



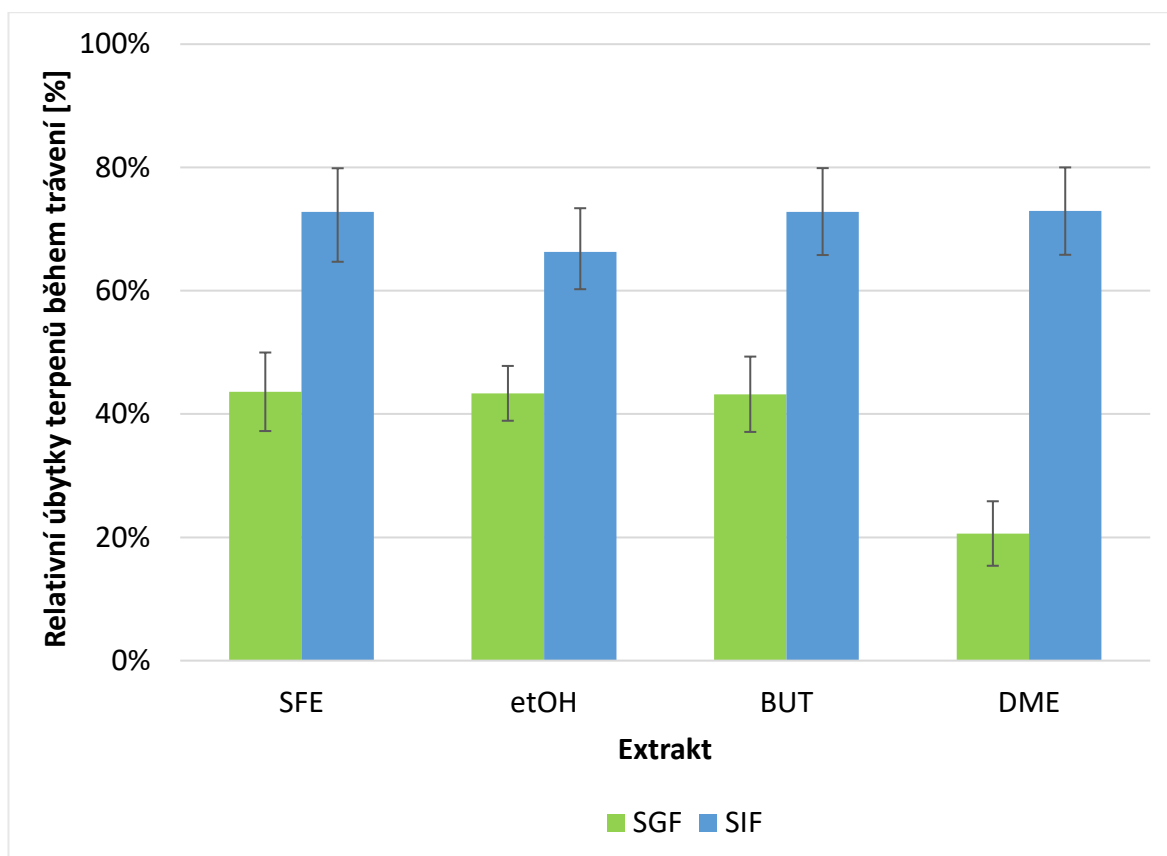
***Použité zkratky v grafu:** SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid
Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č. 5 znázorňuje absolutní množství terpenů v původních extraktech v porovnání se vzorky po digesci. Ze stanovených terpenů jich bylo naměřeno nejvíce v SFE extraktu, jehož celková plocha píků byla $811,26 \pm 46,23$. Druhým extraktem s nejvyšším zastoupením byl etanolvý, kde množství všech identifikovaných terpenů bylo $469,86 \pm 23,52$. V butanovém extraktu činila hodnota součtu píků $428,47 \pm 21,08$, v DME extraktu bylo více jak o polovinu méně terpenů než v SFE extraktu a to $383,36 \pm 16,01$.

V grafu jsou dále zobrazena množství extraktů po žaludeční fázi. Množství analyzovaných terpenů byla následující: SFE – $457,45 \pm 29,14$, etOH – $266,13 \pm 23,52$, BUT – $243,32 \pm 14,86$, DME – $304,31 \pm 15,92$. Malý rozdíl v úbytku terpenů v žaludeční fázi u DME extraktu je dán především přeměnou stanovovaných terpenů na jiné terpeny, které byly identifikovány. Po

intestinální fázi byla množství terpenů ve vzorcích následující: SFE – $113,10 \pm 9,14$, etOH – $73,28 \pm 4,43$, BUT – $49,80 \pm 3,49$, DME – $54,08 \pm 3,83$. U Butanového extraktu byly hodnoty po 3 hodinách trávení nejnižší.

Graf č. 6: Relativní úbytek terpenů během trávení (%)

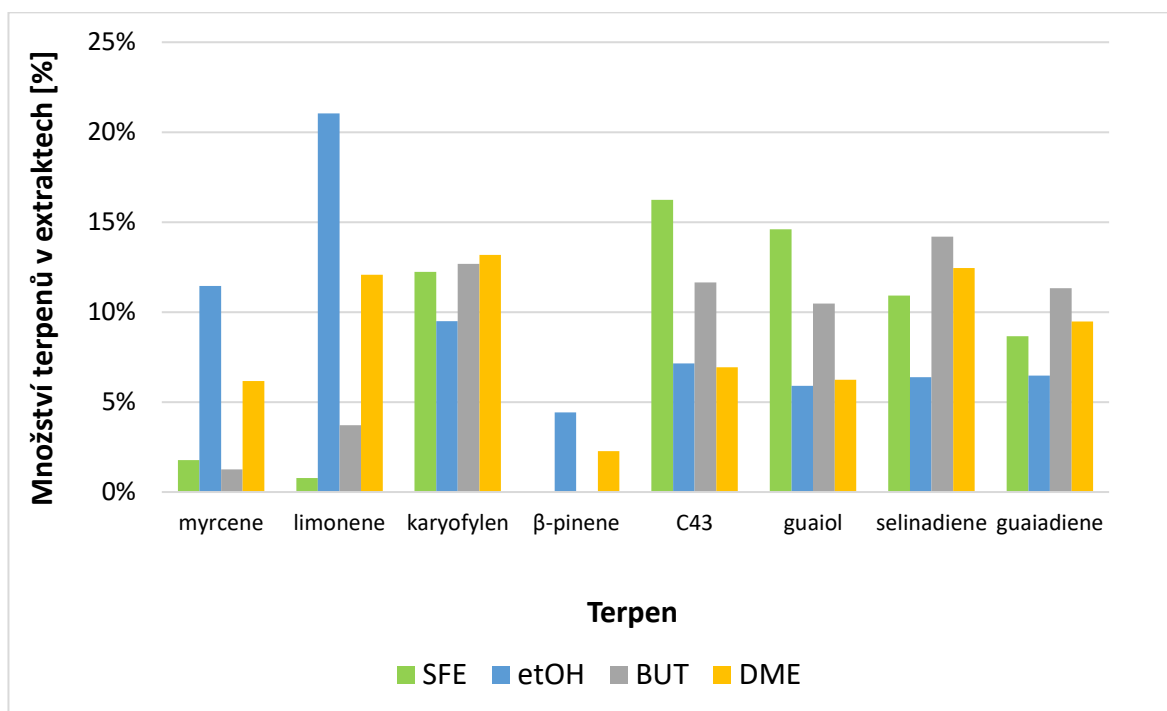


*Použité zkratky v grafu: SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid
 Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

V Grafu č. 6 jsou zobrazeny relativní úbytky všech identifikovaných terpenů během fází digesce. Relativní úbytek terpenů v gastrické fázi byl u prvních 3 extraktů velmi podobný (SFE – $43,61 \pm 6,37$ %, etOH – $43,36 \pm 4,45$ %, BUT – $43,21 \pm 6,11$ %), odlišuje se pouze DME extrakt ($20,62 \pm 5,23$ %). Důvody velkého rozdílu jsou uvedeny výše.

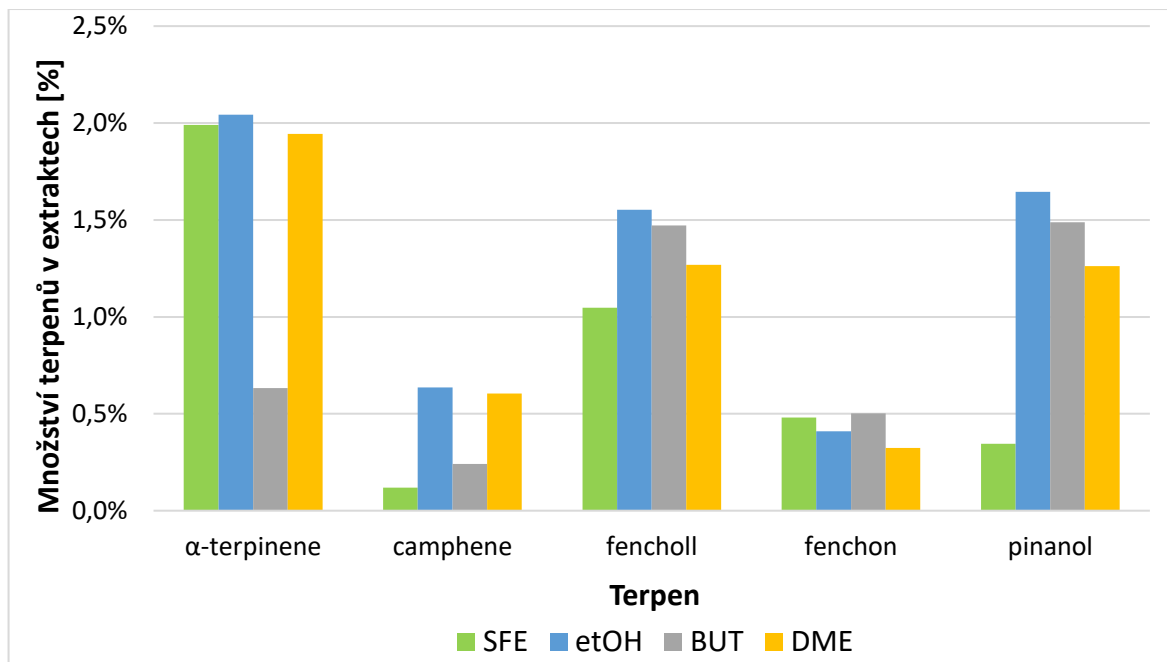
V intestinální fázi byly rozdíly v úbytcích u všech čtyř extraktů velmi malé, pouze etanolový extrakt se trochu odlišoval.

Graf č. 7: Relativní množství vybraných terpenů v extraktech (%)



*Použité zkratky v grafu: SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

Graf č. 8: Relativní množství vybraných terpenů v extraktech (%)

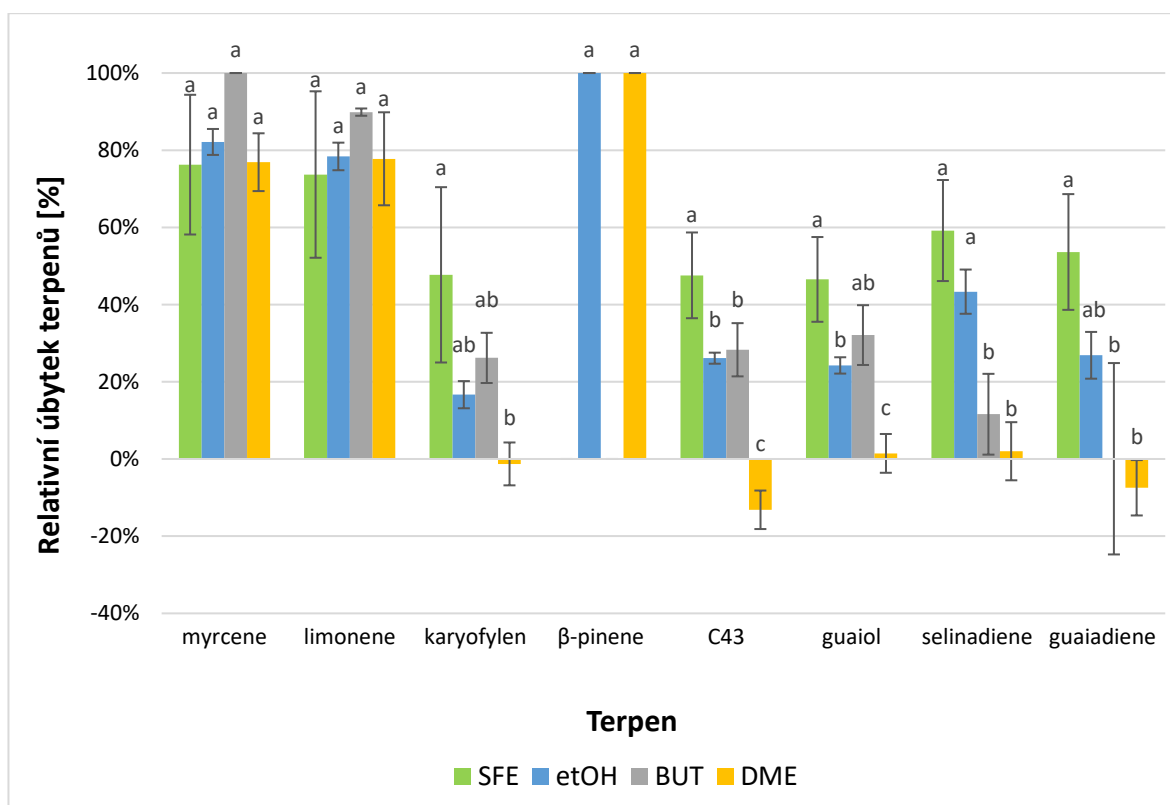


*Použité zkratky v grafu: SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

Graf č. 7 ukazuje relativní zastoupení některých identifikovaných terpenů v původních extraktech. Karyfolen byl terpen s nevyšším průměrným zastoupením v extraktech ($11,90 \pm 1,64$ %). Následoval selinadien ($10,99 \pm 3,00$ %) a neidentifikovaný terpen C₄₃ ($10,49 \pm 4,41$ %). U etanolového extraktu dosahovalo relativní zastoupení limonenu 21,05 %, což je nejvyšší relativní hodnota ze všech měřených terpenů. Celkově extrakty obsahovaly průměrně $9,40 \pm 9,12$ % limonenu. Vysoká směrodatná odchylka je dána velkými rozdíly ve výskytu limonenu u jednotlivých extraktů. β -pinen, jeden z nejběžnějších terpenů v konopí, nebyl v SFE a butanovém extraktu vůbec identifikován, u zbývajících extraktů byl zastoupen pouze několika procenty.

Graf č. 8 znázorňuje terpeny s velmi malým relativním výskytem v extraktech. Terpen s nejnižším zastoupením, který byl zjištěn ve všech čtyřech extraktech, byl camphen ($0,40 \pm 0,25$ %).

Graf č. 9: Relativní úbytek vybraných terpenů v gastrické fázi (%)

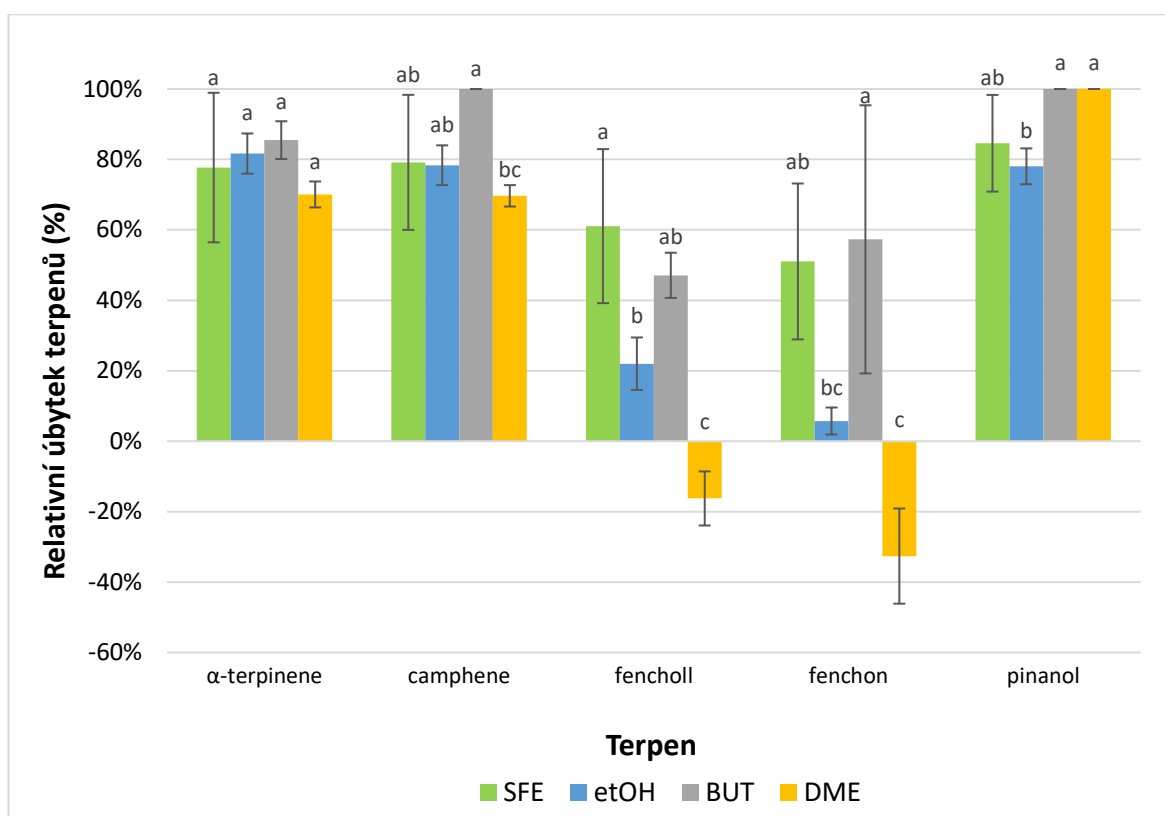


*Použité zkratky v grafu: SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

Odlíšná písmena (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnoceným množstvím jednotlivých terpenů v extraktech po gastrické fázi na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku. Záporné hodnoty značí přírůstek terpenů.

Graf č. 10: Relativní úbytky vybraných terpenů v gastrické fázi (%)



***Použitá zkratky v grafu:** SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

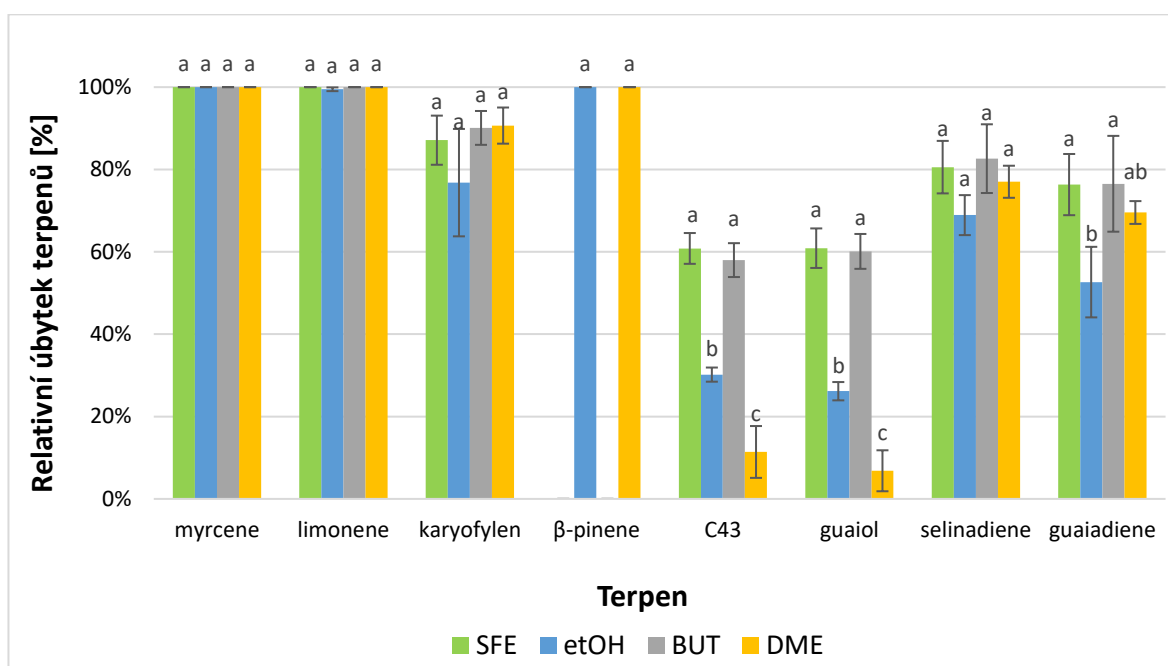
Odlíšná písmena (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnoceným množstvím jednotlivých terpenů v extraktech po gastrické fázi na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku. Záporné hodnoty značí přírůstek terpenů.

Vysoký úbytek některých terpenů v gastrické fázi je zřejmý z Grafu č.9. a Grafu č. 10. β -pinen byl zcela degradován, úbytek myrcenu, α -terpinenu, camphenu, nebo limonenu byl přibližně 80%. Některé terpeny z dimetyléterového extraktu naopak přibyly oproti původnímu množství před analýzou. Kromě uvedených terpenů v grafu to byl také eudesmol a cadinen.

V SFE extraktu nedošlo k nárůstu žádného z analyzovaných terpenů. U etOH extraktu došlo k nárůstu germacrenu ($66,52 \pm 9,81$ %) a u butanového extraktu k nárůstu terpenu C₂₉ ($387,44 \pm 425,59$ %). Vysoká směrodatná odchylka je dána faktem, že v jednom ze tří vzorků nebyl po digesci identifikován, ale ve zbývajících dvou byl nárůst několikanásobný oproti původnímu extraktu.

Graf č. 11: Relativní úbytky vybraných terpenů v intestinální fázi (%)

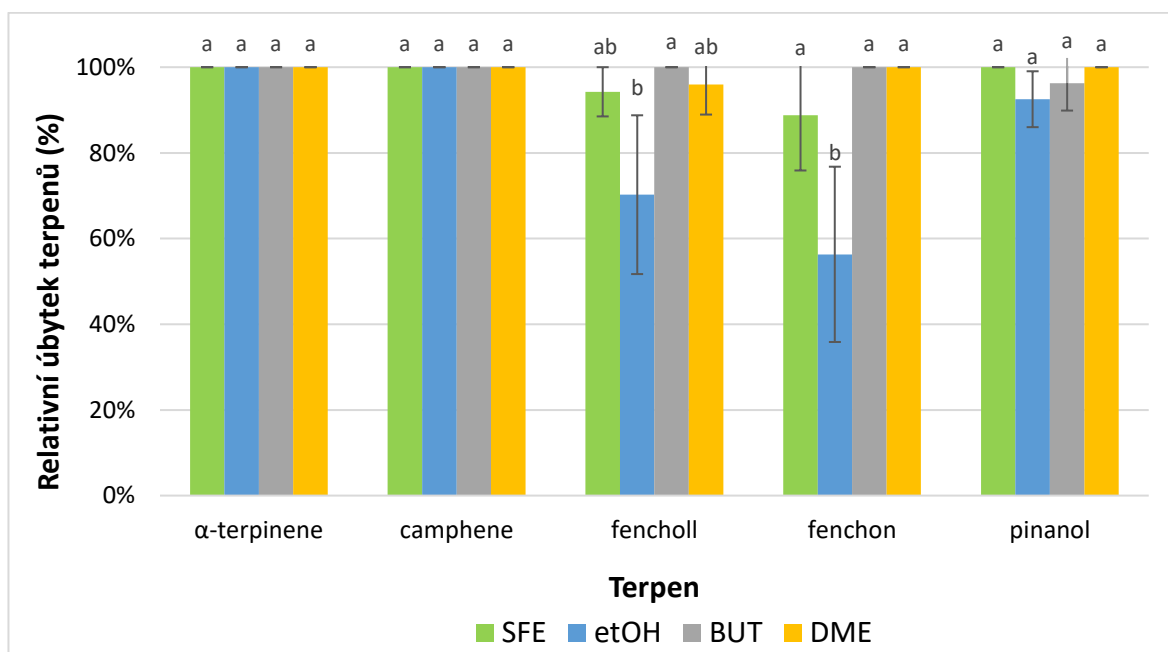


***Použité zkratky v grafu:** SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

Odlišná písmena (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnoceným množstvím jednotlivých terpenů v extraktech po intestinální fázi na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č. 12: Relativní úbytek vybraných terpenů v intestinální fázi (%)



***Použité zkratky v grafu:** SFE – superkritická fluidní extrakce, etOH – etanol, BUT – butan, DME – dimetyléter, SGF – Simulated Gastric Fluid, SIF – Simulated Intestinal Fluid

Odlišná písmena (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnoceným množstvím jednotlivých terpenů v extraktech po intestinální fázi na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č. 11 a Graf č. 12 znázorňuje relativní úbytky v intestinální fázi. Myrcen, pinen, α -terpinen a camphen nebyly detekovány vůbec. U limonenu bylo detekováno pouze nepatrné množství v etanolovém extraktu (<1 %). U etanolového extraktu došlo opět k nárůstu množství germacrenu ($48,74 \pm 21,18$ %) v porovnání s inertním standardem. Jednalo se o jediný zaznamenaný nárůst dříve přítomného terpenu v intestinální fázi.

Terpen C₂₉ nebyl v žádném z původních extraktů identifikován, ale po intestinální digesci byl ve všech vzorcích detekován jeho výskyt, i když poměr naměřených píků k ploše píků IS byl velmi malý. Jak je patrné z grafů, nejvyšší úbytek terpenů byl u SFE extraktu.

6 Diskuze

Účelem této práce bylo zjistit, zda dochází k přeměnám vybraných kanabinoidů a terpenů v konopných extraktech (superkritická fluidní extrakce, etanol, butan a dimetyléter) během trávicích procesů v simulovaných *in vitro* podmínkách statického trávicího modelu. Výsledky by mohly částečně napomoci objasnit problematiku ohledně konopných extraktů při orálním podávání. Zejména jejich dávkování a účinky při léčbě některých onemocnění.

Z výsledků vyplývá, že obsah THC v extraktech se výrazně liší v závislosti na použité metodě extrakce. Nejnižší množství THC bylo v SFE extraktu, nejvyšší pak v butanovém.

Extrakce látek u konopí za použití stlačeného oxidu uhličitého a zvýšeného tlaku se jeví jako velmi šetrná a účinná metoda. Důležité jsou však parametry extrakce, jak uvádí Rovetto & Aieta (2017). Ve své práci popisují značné rozdíly ve výtěžnosti THC v extraktu v závislosti na tlaku a času. Při nízkém tlaku a krátké době extrakce bylo celkové množství vyextrahovaného THC nižší. Přídavek etanolu k rostlinnému materiálu může taktéž zvýšit výtěžnost kanabinoidů i terpenů. Tyto skutečnosti mohou vysvětlit nízké hodnoty THC v SFE extraktu. Butanový extrakt je velmi oblíbený mezi běžnými uživateli, jelikož jeho výroba je levná a výtěžnost je velmi vysoká (Stonger & Miller 2015). Miller et al. (2016) uvádí, že obsah THC v butanovém extraktu může být až 90 %. Polarita rozpouštědla se značně podílí na celkovém množství kanabinoidů. Extrakce pouze etanolem může být méně účinná, než kombinace s nepolárním rozpouštědlem (Aizpurua-Olaizola et al. 2016), avšak etanol jakožto solvent je méně toxické rozpouštědlo v porovnání s petroléterem nebo dimetyléterem (Romano & Hazekamp 2013).

Obsah biologicky aktivních látek v různých částech rostlin je velmi proměnlivý. Použité extrakty byly vyrobeny z jednoho kultivaru (McLove), ale obsah jednotlivých látek se může velmi lišit i mezi stejnými rostlinami (Rosenthal 2011). Vysoká variabilita kanabinoidů a terpenů je i v květenství samotné rostliny. Jak uvádí Namder et al. (2018), obsah těchto látek je nejvyšší ve vrcholových květech, naopak nejnižší je na spodních výhoncích. Účinek teploty na vzorky během digesce může mít negativní vliv na množství THC (Trofin et al. 2012).

Zatímco relevantních zdrojů popisujících vliv kanabinoidů např. na střevní motilitu (Shook & Burks 1989) nebo na vyprazdňování žaludku (DiMarzo et al. 2008) je poměrně velké množství, dostupných zdrojů zabývajících se degradací THC a konopných terpenů v žaludku, nebo tenkém střevě je velmi málo. Grotenhermen (2001) uvádí, že kanabinoidy jsou degradovány vlivem kyselého pH žaludku na různé metabolity. Dále Agurell et al. (1986) uvádí, že kyselé prostředí může vést ke vzniku jiných kanabinoidů, např. psychoaktivního Δ^8 -THC.

V intestinální fázi došlo ke smíchání natrávených vzorků s pankreatickými enzymy a žlučovými solemi. Tyto látky mohou interagovat s přítomným THC a zejména žlučové soli mohou metabolizovat THC na polární metabolity, např. glukuronové konjugáty (Fabritius et al. 2012), které nebyly ve vzorcích měřeny.

Merrick et al. (2016) popisuje ve své studii přeměnu CBD na THC v simulovaném trávicím traktu. Během 2 hodin se přeměnilo více jak 90 % CBD na THC. Avšak podmínky, při kterých byl pokus proveden, neodpovídaly standardním podmínkám *in vivo* (Nahler et al. 2017). Nahler et al. se ve své práci zabývali podmínkami pokusu, při kterých došlo k této transformaci CBD na THC. Uvádí, že nebyly použity elektrolyty, enzymy a pH bylo 1,0. Použité CBD bylo navíc syntetické a rozpuštěné v metanolu. V podobné práci z roku 2007 také nebyly použity enzymy, ale simulovaný SGF roztok obsahoval elektrolyty, CBD bylo rostlinného původu a pH bylo přibližně 1,7. Po 20 hodinách došlo k přeměně CBD na THC z 2,9 %, 1,1 %, 1,4 %, resp. 10,0 %. (Watanabe et al. 2007). Tyto výsledky naznačují že lidé, kteří používají CBD orálně se nemusí obávat psychotropních účinků THC (Nahler et al. 2017) V extraktech použitých při výše zmíněném pokusu byl obsah CBD velmi nízký (<1 %), proto nebyla jeho koncentrace ve vzorcích měřena.

Stejně jako u THC se obsah terpenů výrazně liší v závislosti na použité metodě extrakce. Nejvyšší hodnoty byly v extraktu vyrobeného použitím stlačeného CO₂. To odpovídá údajům, které uvádí Omar et al. (2013).

Myrcen, limonen, nebo β -pinen patří k hojně zastoupeným terpenům v konopné pryskyřici. Důvodem jejich malého výskytu v extraktech mohl být především genetický původ rostlin. U vybraných kultivarů může β -pinen tvořit i více než polovinu obsahu všech terpenů, zároveň u jiných rostlin to může být pouze několik procent z celkového množství. Stejně je to i v případě myrcenu, nebo limonenu, jehož množství je také velmi variabilní (Lewis et al. 2018). Vliv na obsah a spektrum terpenů mají i enviromentální podmínky, ve kterých rostlina vyrůstá (Fischedick et al. 2010).

Degradace, nebo biotransformace během *in vitro* digesce proběhla u všech měřených terpenů. U myrcenu, camphenu, β -pinenu, nebo α -terpinenu došlo ke 100% úbytku. U většiny terpenů kromě germacrenu z etanolového extraktu došlo po intestinální fázi ke snížení jejich koncentrace. Výjimkou jsou guaiol, eudesmol, C₄₂, C₄₃ a výše zmíněný germacren. Tyto terpeny vykazovaly vysokou stabilitu během celé digesce, Jejich úbytek byl méně než 50 %.

Vznik nových terpenoidních látek, které v původním extraktu nebyly, naznačuje, že vlivem podmínek během trávení dochází k biotransformaci některých látek na jiné, potenciálně biologicky aktivní složky (Baser & Buchbauer 2015). Nárůst terpineolu a některých dalších

terpenů během gastrické fáze souvisí pravděpodobně s biotransformací limonenu katalyzovanou kyselým prostředím. (Heinlein & Buettner 2012). Mezi nově vzniklé terpeny, které byly identifikovány po intestinální fázi, patří C₂₉, α -bergamoten, nebo germacren. Potenciální cytotoxické vlastnosti α -bergamotenu uvádí Jomaa et al. (2012), stejné vlastnosti germacrenu uvádí Grecco et al. (2015). Vzhledem k pouze malému rozsahu identifikovaných látek je možné, že k biotransformaci vlivem trávení došlo i u jiných terpenů, jako je humulen (Dauben et al. 1975) a linalool (Pedersen et al. 2003).

Vysoké úbytky terpenů a THC mohly být také způsobeny adsorbací na proteiny obsažené v trávicích enzýmech (Heinlein & Beuttner 2012).

Předpověď vlivu trávení na spektrum účinných látek v konopí je v současnosti velice obtížná vzhledem k nedostatku informací. Nicméně další studie, které budou hodnotit širší spektrum kanabinoidů a terpenů, budou velmi zajímavé.

7 Závěr

Na základě výsledků lze konstatovat, že obě hypotézy byly splněny. Během *in vitro* digesce došlo jak ke změně biodostupnosti vybraných látek, tak k jejich biotransformaci. Jednotlivé konopné extrakty se mezi sebou lišily v obsahu látek. Nejvíce THC bylo v butanovém (75,07 %), nejméně v extraktu vyrobeném superkritickou fluidní extrakcí (24,59 %). Mezi jednotlivými extrakty byly průkazné rozdíly v obsahu THC po trávení. Nejmenší úbytek THC byl naměřen u dimetyléterového extraktu ($38,58 \pm 3,53$ %), nejvyšší u butanového ($62,45 \pm 5,13$ %). Množství terpenů obsažených v jednotlivých extraktech bylo také rozdílné, ale identifikovaných terpenů bylo pouze 22. Nejvíce terpenů bylo v extraktu vyrobeném fluidní extrakcí, přibližně o polovinu více než v ostatních extraktech. Úbytky terpenů byly mezi vzorky velmi podobné. Pouze u dimetyléterového extraktu došlo během gastrické fáze k nižším úbytkům než u ostatních vlivem biotransformace některých terpenů na jiné. Po fázi simulující tenké střevo byly úbytky u všech 4 extraktů podobné, kolem 70 %.

Dle výsledků bylo zjištěno, že dostupnost THC a terpenů se liší podle typu extraktu. Obsah biologicky aktivních látek může být velmi rozdílný u jednotlivých extraktů a pokus postihl pouze část spektra kanabinoidů a terpenů, které konopí obsahuje.

Značné úbytky THC a terpenů naznačují jejich rychlou degradaci a biotransformaci během trávení. Na těchto chemických změnách se nejspíše podílí kyselé prostředí žaludku a proteiny obsažené v trávicích enzimech. Touto cestou může dojít ke vzniku potenciálně prospěšných látek.

V budoucnu však bude potřeba provést podrobnější výzkumy, které by postihly širší spektrum účinných látek a napomohly tak k efektivnější léčbě pacientů konopím a konopnými produkty.

8 Literatura

- Abdel-Salam O. 2016. Gastric acid inhibitory and gastric protective effects of cannabis and cannabinoids. *Asian Pacific journal of tropical medicine* **9**:413–419.
- Abrahámová J. 2004. Rakovina tlustého střeva a konečníku. 1. vydání. Státní zdravotní ústav, Praha.
- Abrams CK, Hamosh M, Dutta SK, Hubbard VS, Hamosh P. 1987. Role of nonpancreatic lipolytic activity in exocrine pancreatic insufficiency. *Gastroenterology* **92**:125–129.
- Abrams DI. 2016. Integrating cannabis into clinical cancer care. *Current Oncology*. **23** (Suppl 2). S8–S14.
- Adams P. 2012. Weedology – Marihuana, vše o pěstování konopí. Positive Publishers b.v.b.a., Nizozemsko.
- Adams R, Hunt M, Clark JH. 1940. Structure of cannabidiol, a product isolated from the marihuana extract of Minnesota wild hemp. I. *Journal of the American Chemical Society* **62**:196–200.
- Agurell S, Halldin M, Lindgren JE, Ohlsson A, Widman M, Gillespie H, Hollister L. 1986. Pharmacokinetics and metabolism of delta1-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids with emphasis on man. *Pharmacol Rev* **38**:21–43.
- Ahmed AIA, van der Marck MA, van den Elsen GAH, Olde Rikkert MGM. 2015. Cannabinoids in late-onset Alzheimer's disease. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **97**:597–606.
- Aizpurua-Olaizola O, Soydaner U, Öztürk E, Schibano D, Simsir Y, Navarro P, Etxebarria N, Usobiaga, A. 2016. Evolution of the cannabinoid and terpene content during the growth of *Cannabis sativa* plants from different chemotypes. *Journal of natural products* **79**:324–331.

- Alminger M, et al. 2014. *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **13**:413–436.
- Andersson L, Bratt C, Arnoldsson KC, Herslöf B, Olsson NU, Sternby B, Nilsson A. 1995. Hydrolysis of galactolipids by human pancreatic lipolytic enzymes and duodenal contents. *Journal of lipid research* **36**:1392–1400.
- Andoğan BC, Baydar H, Kaya S, Demirci M, Özbaşar D, Mumcu E. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Arch Pharm Res.* **25**:860–864.
- 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.
- Aran A, Cassuto H, Lubotzky A. 2018. Cannabidiol Based Medical Cannabis in Children with Autism-a Retrospective Feasibility Study. *Neurology* **90**:318.
- Atsmon J, Heffetz D, Deutsch L, Deutsch F, Sacks H. 2018. Single-Dose Pharmacokinetics of Oral Cannabidiol Following Administration of PTL101: A New Formulation Based on Gelatin Matrix Pellets Technology. *Clinical pharmacology in drug development* **7**:751–758.
- Ballotta D, Bergeron H, Hughes B. 2008. Cannabis control in Europe. EMCDDA MONOGRAPHS. **99**.
- Barrett ML, Scutt AM, Evans FJ. 1986. Cannflavin A and B, prenylated flavones from *Cannabis sativa* L. *Experientia* **42**:452–453.
- Barrus DG, Capogrossi KL, Cates SC, Gourdet CK, Peiper NC, Novak SP, Lefever TW, Wiley JL. 2016. Tasty THC: promises and challenges of cannabis edibles. *Methods report* (RTI Press).
- Baser KHC, Buchbauer G. 2015. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC press.
- Baštecký J, Kümpel Q, Vojtěchovský M. 1994. *Gerontopsychiatrie*. Grada, Praha.

Beal JE, et al. 1995. Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. *Journal of pain and symptom management* **10**:89–97.

Berdutina AV, Neklyudov AD, Ivankin AI, Karpo BS, Mitaleva SI. 2000. Comparison of proteolytic activities of the enzyme complex from mammalian pancreas and pancreatin. *Applied Biochemistry and Microbiology* **36**:363–367.

Bezard E, Brotchie JM, Gross CE. 2001. Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: potential for new therapies. *Nature Reviews Neuroscience* **2**:577.

Bhattacharyya S, et al. 2010. Opposite effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology* **35**:764–774.

Bienz S, Detterbeck R, Ensch C, Guggisberg A, Häusermann U, Meisterhans C, Wendt B, Werner Ch, Hesse M. 2002. Putrescine, spermidine, spermine, and related polyamine alkaloids. Pages 83-338 in Cordell GA, editor. *The alkaloids, chemistry and pharmacology*, vol 58. Academic Press, USA.

Bisogno T, Nunzio SEPE, Melck D, Maurelli S, De Petrocellis L, Di Marzo V. 1997. Biosynthesis, release and degradation of the novel endogenous cannabimimetic metabolite 2-arachidonoylglycerol in mouse neuroblastoma cells. *Biochemical Journal* **322**:671–677.

Bisogno T, et al. 2003. Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. *Journal of Cell Biology* **163**:463–468.

Blakey S, Marks H. 2014. Konopí: Znovuobjevený potenciál. In Běhal L, editor. *Sborník přednášek z konference Cannafest 2010–2013*. Lukáš Běhal, Praha.

Boisen S, Eggum BO. 1991. Critical evaluation of *in vitro* methods for estimating digestibility in simple-stomach animals. *Nutrition research reviews* **4**:141–162.

Booth JK, Page JE, Bohlmann J. 2017. Terpene synthases from *Cannabis sativa*. *PloS ONE* **12** (e0173911) DOI: 10.1371/journal.pone.0173911.

- Booth M. 2004. Konopí – dějiny. BB/art s.r.o., Praha.
- Borodovsky JT, Crosier BS, Lee DC, Sargent JD, Budney AJ. 2016. Smoking, vaping, eating: Is legalization impacting the way people use cannabis? *International Journal of Drug Policy* **36**:141-147.
- Breitmaier E. 2006. Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. John Wiley & Sons, Germany.
- Brenneisen R. 2007. Chemistry and analysis of phytocannabinoids and other Cannabis constituents. Pages 17–49 in ElSohly MA, editor. *Marijuana and the Cannabinoids*. Humana Press.
- Brenneisen R, Egli A, ElSohly MA, Henn V, Spiess Y. 1996. The effect of orally and rectally administered delta 9-tetrahydrocannabinol on spasticity: A pilot study with 2 patients. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics* **34**:446–452.
- Calhoun SR, Galloway GP, Smith DE. 1998. Abuse potential of dronabinol (Marinol®). *Journal of psychoactive drugs* **30**:187–196.
- Castaneto MS, Gorelick DA, Desrosiers NA, Hartman RL, Pirard S, Huestis MA. 2014. Synthetic cannabinoids: epidemiology, pharmacodynamics, and clinical implications. *Drug and alcohol dependence* **144**:12–41.
- Castle D, Murray RM, D'Souza DC. 2011. *Marijuana and madness*. Cambridge University Press.
- Chadha A, Madyastha MK. 1984. Metabolism of geraniol and linalool in the rat and effects on liver and lung microsomal enzymes. *Xenobiotica* **14**:365–374.
- Chandra S, Lata H, ElSohly MA. 2017. *Cannabis sativa L. - botany and biotechnology*. Springer, Cham.

Choi YH, Kim HK, Hazekamp A, Erkelens C, Lefeber AW, Verpoorte R. 2004. Metabolomic Differentiation of Cannabis sativa Cultivars Using ¹H NMR Spectroscopy and Principal Component Analysis. *Journal of natural products* **67**:953–957.

Clark AJ, Lynch ME, Ware M, Beaulieu P, McGilveray IJ, Gourlay D. 2005. Guidelines for the use of cannabinoid compounds in chronic pain. *Pain Research and Management* **10** (Suppl A):44–46.

Colasanti BK. 1990. A comparison of the ocular and central effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabigerol. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* **6**:259–269.

Conrad Ch. 2001. *Konopí pro zdraví: Fakta o léčivých účincích marihuany*. Pragma, Praha.

Coles LT, Moughan PJ, Darragh AJ. 2005. *In vitro* digestion and fermentation methods, including gas production techniques, as applied to nutritive evaluation of foods in the hindgut of humans and other simple-stomached animals. *Animal Feed Science and Technology* **123**:421–444.

Dauben WG, Hubbell JP, Vietmeyer ND. 1975. Acid-catalyzed rearrangements of humulene. *The Journal of Organic Chemistry* **40**:479–485.

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**:4115–4124.

De Meijer EPM, Hammond KM, Micheler M. 2009. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. (III): variation in cannabichromene proportion. *Euphytica* **165**:293–311.

De Petrocellis L, et al. 2011. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *British journal of pharmacology* **163**:1479–1494.

Devane WA, Dysarz FA III, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. 1988. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular pharmacology* **34**:605–613.

Devane WA, Hanus LO, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, 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**:1946–1949.

Di Marzo V. 2008. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce?. *Nature reviews Drug discovery* **7**:438.

Di Marzo V, et al. 2008. The role of endocannabinoids in the regulation of gastric emptying: alterations in mice fed a high-fat diet. *British journal of pharmacology* **153**:1272–1280.

Di Marzo V, Melck D, Bisogno T, De Petrocellis L. 1998. Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends in neurosciences* **21**:521–528.

Di Marzo V, Piscitelli F. 2015. The endocannabinoid system and its modulation by phytocannabinoids. *Neurotherapeutics* **12**:692–698.

Downer EJ, Campbell VA. 2010. Phytocannabinoids, CNS cells and development: a dead issue?. *Drug and alcohol review* **29**:91–98.

Dupal L. 2010. *Kniha o marihuaně. Mat'a, Praha.*

ElSohly MA, Slade D. 2005. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Science* **78**:539–548.

ElSohly MA, Stanford DF, Murphy TP. 2007. Chemical fingerprinting of cannabis as a means of source identification. Pages 51-56 in ElSohly MA, editor. *Marijuana and the Cannabinoids*. Humana Press.

- ElSohly MA, Turner CE, Phoebe Jr CH, Knapp JE, Schiff Jr PL, Slatkin DJ. 1978. Anhydrocannabisativine, a new alkaloid from *Cannabis sativa* L. Journal of pharmaceutical sciences **67**:124–124.
- Elzinga S, Fishedick J, Podkolinski R, Raber JC. 2015. Cannabinoids and terpenes as chemotaxonomic markers in cannabis. Natural Products Chemistry & Research **3**:2.
- Eubanks LM, Rogers CJ, Beuscher AE. 2006. A molecular link between the active component of marijuana and Alzheimer's disease pathology. Molecular Pharmaceutics **3**:773–777.
- Faber J. 1995. Epilepsie a epileptózy. Maxdorf, Praha.
- Falk AA, Hagberg MT, Löf AE, Wigaeus-Hjelm EM, Zhiping W. 1990. Uptake, distribution and elimination of α -pinene in man after exposure by inhalation. Scandinavian Journal of Work, Environment & Health **16**:372–378.
- Fisar Z. 2009. Phytocannabinoids and endocannabinoids. Current drug abuse reviews **2**:51–75.
- Fishedick JT, Hazekamp A, Erkelens T, Choi YH, Verpoorte R. 2010. Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. Phytochemistry **71**:2058–2073.
- Flammer J. 2003. Glaukom. Triton, Praha.
- Flores-Sanchez IJ, Verpoorte R. 2008. Polyketide synthases in *Cannabis sativa* L. PrintPartners Ipskamp B. V., Amsterdam.
- Fride E, Feigin C, Ponde DE, Breuer A, Hanuš LO, Arshavsky N, Mechoulam R. 2004. (+)-Cannabidiol analogues which bind cannabinoid receptors but exert peripheral activity only. European journal of pharmacology **506**:179–188.
- Fujinaga M, Chernai MM, Mosimann SC, James MN, Tarasova NI. 1995. Crystal structure of human pepsin and its complex with pepstatin. Protein Science **4**:960–972.

- Gargouri Y, Julien R, Bois AG, Verger R, Sarda L. 1983. Studies on the detergent inhibition of pancreatic lipase activity. *Journal of Lipid Research* **24**:1336–1342.
- Gass J, Vora H, Hofmann AF, Gray GM, Khosla C. 2007. Enhancement of dietary protein digestion by conjugated bile acids. *Gastroenterology* **133**:16–23.
- Gelfond D, Ma C, Semler J, Borowitz D. 2013. Intestinal pH and gastrointestinal transit profiles in cystic fibrosis patients measured by wireless motility capsule. *Digestive diseases and sciences* **58**:2275–2281.
- Gieringer D. 1996. Marijuana research: Waterpipe study. MAPS [Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies]. *Bull* **6**:59–66.
- Gieringer D. 2001. NORML study shows vaporizers reduce marijuana smoke toxins. *California NORML Reports* **25**:2.
- Giese MW, Lewis MA, Giese L, Smith KM. 2015. Method for the analysis of cannabinoids and terpenes in Cannabis. *Journal of AOAC International* **98**:1503–1522.
- Giombi KC, Kosa KM, Rains C, Cates SC. 2018. Consumers' perceptions of edible marijuana products for recreational use: Likes, dislikes, and reasons for use. *Substance use & misuse* **53**:541–547.
- Girgih AT, Udenigwe CC, Aluko RE. 2011. *In vitro* antioxidant properties of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate fractions. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **88**:381–389.
- Gorham J, Tori M, Asakawa Y. 1995. *The biochemistry of the stilbenoids*. Chapman & Hall.
- Grecco SDS, Martins EGA, Girola N, de Figueiredo CR, Matsuo AL, Soares MG, Bertoldo BC, Sartorelli P, Lago JHG. 2015. Chemical composition and *in vitro* cytotoxic effects of the essential oil from *Nectandra leucantha* leaves. *Pharmaceutical biology* **53**:133–137.
- Grinspoon L, Bakalar J. 1996. *Marihuana, zakázaná medicína*. CAD Press, Bratislava.

- Grotenhermen F. 2001. Harm reduction associated with inhalation and oral administration of cannabis and THC. *Journal of Cannabis Therapeutics* **1**:133–152.
- Grotenhermen F. 2003. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clinical Pharmacokinetics* **42**:327–360.
- Halldin MM, Andersson LK, Widman M, Hollister LE. 1982. Further urinary metabolites of delta-1-tetrahydrocannabinol in man. *Arzneimittel-Forschung* **32**:1135–1138.
- Hamosh M, Burns WA. 1977. Lipolytic activity of human lingual glands (Ebner). Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology **37**:603–608.
- Haney M. 2007. Opioid antagonism of cannabinoid effects: differences between marijuana smokers and nonmarijuana smokers. *Neuropsychopharmacology* **32**:1391.
- Hanuš LO. 2009. Pharmacological and therapeutic secrets of plant and brain (endo) cannabinoids. *Medicinal Research Reviews* **29**:213–271.
- Hanuš LO. 2011. Vyléčí konopí rakovinu? *Adiktologie. Sdružení SCAN, Praha.* **11**:60–67.
- Hanuš LO. 2012. Endogenní kanabinoidy, receptory, fyziologické role. *Revue České lékařské akademie* **8**:8–12.
- Hanuš LO, Abu-Lafi S, Fride E, Breuer A, Vogel Z, Shalev DE, Mechoulam R. 2001. 2-Arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**:3662–3665.
- Harvey DJ. 1991. Metabolism and pharmacokinetics of the cannabinoids. Pages 279-365 in Watson RR, editor. *Biochemistry and physiology of substance abuse* CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Harvey DJ, Mechoulam R. 1990. Metabolites of cannabidiol identified in human urine. *Xenobiotica* **20**:303–320.

Havrdová E. 2013. Roztroušená skleróza. 1. vyd. Mladá Fronta, Praha.

Havrdová E. 2015. Roztroušená skleróza v praxi. 1. vyd. Galén, Praha.

Hawksworth G, McArdle K. 2004. Metabolism and pharmacokinetics of cannabinoids. Pages 205–228 in Guy GW, Whittle BA, Robson PJ, editors. *The Medicinal Uses of Cannabis and Cannabinoids*. Pharmaceutical Press, London.

Hazekamp A, Ware MA, Muller-Vahl KR, Abrams D, Grotenhermen F. 2013. The medicinal use of cannabis and cannabinoids-an international cross-sectional survey on administration forms. *Journal of psychoactive drugs* **45**:199–210.

Heinlein A, Buettner A. 2012. Monitoring of biotransformation of hop aroma compounds in an *in vitro* digestion model. *Food & function* **3**:1059–1067.

Hillig KW. 2005. Genetic evidence for speciation in Cannabis (*Cannabaceae*). *Genetic Resources and Crop Evolution* **52**:161–180.

Holland J, Weil A, Pollan M, Grinspoon L, St. Pierre A. 2014. Tráva: Kompletní průvodce světem marihuany v medicíně, vědě, kultuře a politice. Pragma, Praha.

Hollister LE, Gillespie HK. 1973. Delta-8-and delta-9-tetrahydrocannabinol; Comparison in man by oral and intravenous administration. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **14**:353–357.

Hollister LE, Gillespie HK, Ohlsson A, Lindgren JE, Wahlen A, Agurell S. 1981. Do Plasma Concentrations of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Reflect the Degree of Intoxication?. *The Journal of Clinical Pharmacology* **21**(S1):171–177.

Howlett AC et al. 2002. International union of pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological Reviews* **54**:161–202.

- Huestis MA. 2007. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chemistry & biodiversity* **4**:1770–1804.
- Huestis MA, Cone EJ. 1998. Urinary excretion half-life of 11-nor-9-carboxy- Δ 9-tetrahydrocannabinol in humans. *Therapeutic drug monitoring* **20**:570–576.
- Huestis MA, Henningfield JE, Cone EJ. 1992. Blood cannabinoids. I. Absorption of THC and formation of 11-OH-THC and THCCOOH during and after smoking marijuana. *Journal of Analytical Toxicology* **16**:276–282.
- Hur SJ, Lim BO, Decker EA, McClements DJ. 2011. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry* **125**:1–12.
- Hutchings DE, Martin BR, Gamagaris Z, Miller N, Fico T. 1989. Plasma concentrations of delta-9-tetrahydrocannabinol in dams and fetuses following acute or multiple prenatal dosing in rats. *Life sciences* **44**:697–701.
- Iannotti FA, Di Marzo, V, Petrosino S. 2016. Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: targets, metabolism and role in neurological disorders. *Progress in lipid research* **62**:107–128.
- Inagaki T, et al. 2006. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**:3920–3925.
- Isenman L, Liebow C, Rothman S. 1999. The endocrine secretion of mammalian digestive enzymes by exocrine glands. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism* **276**:223–232.
- Ishida T, Asakawa Y, Takemoto T, Aratani T. 1981. Terpenoids biotransformation in mammals III: Biotransformation of α -pinene, β -pinene, pinane, 3-carene, carane, myrcene, and p-cymene in rabbits. *Journal of pharmaceutical sciences* **70**:406–415.

Iskedjian M, Bereza B, Gordon A, Piwko C, Einarson TR. 2007. Meta-analysis of cannabis based treatments for neuropathic and multiple sclerosis-related pain. *Current medical research and opinion* **23**:17–24.

Iuvone T, Esposito G, Esposito R, Santamaria R, Di Rosa M, Izzo AA. 2004. Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from *Cannabis sativa*, on β -amyloid-induced toxicity in PC12 cells. *Journal of neurochemistry* **89**:134–141.

Jadoon KA, Ratcliffe SH, Barrett DA, Thomas EL, Stott C, Bell JD, Tan GD. 2016. Efficacy and safety of cannabidiol and tetrahydrocannabinol on glycemic and lipid parameters in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group pilot study. *Diabetes Care* **39**:1777–1786.

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

Jean-Gilles L, et al. 2015. Effects of pro-inflammatory cytokines on cannabinoid CB 1 and CB 2 receptors in immune cells. *Acta Physiologica* **214**:63-74.

Jedlička P, et al. 2005. *Speciální neurologie*. 1. vyd. Galén, Praha.

Jensen-Jarolim E, Untersmayr E. 2006. Food safety: *in vitro* digestion tests are non-predictive for allergenic potential of food in stomach insufficiency. *Immunology letters* **102**:118–119.

Jiang R, Yamaori S, Takeda S, Yamamoto I, Watanabe K. 2011. Identification of cytochrome P450 enzymes responsible for metabolism of cannabidiol by human liver microsomes. *Life sciences* **89**:165–170.

Jiráček R, Koukolík F. 2004. *Demence*. Neurobiologie, klinický obraz, terapie. Grada, Praha.

Jomaa S, Rahmo A, Alnori AS, Chatty ME. 2012. The cytotoxic effect of essential oil of Syrian Citrus limon peel on human colorectal carcinoma cell line (Lim1863). *Middle East journal of cancer* **3**:15–21.

- Jun S, Hicks AJ, Hildenbrand ZL. 2015. A Preliminary Understanding of Cannabis Medicine and the Need for Further Characterization. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques* **6**:1.
- Kalina K, Adameček A, Bartošíková I, Bayer D, Bém P. 2003. Drogy a drogové závislosti 1-meziorborový přístup. Úřad vlády České republiky, Praha.
- Kamatou GP, Viljoen AM. 2010. A review of the application and pharmacological properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-rich oils. *Journal of the American oil chemists' society* **87**:1–7.
- Karschner EL, Schwilke EW, Lowe RH, Darwin WD, Herning RI, Cadet JL, Huestis MA. 2009. Implications of plasma Δ 9-tetrahydrocannabinol, 11-hydroxy-THC, and 11-nor-9-carboxy-THC concentrations in chronic cannabis smokers. *Journal of analytical toxicology* **33**:469–477.
- Kaukonen AM, Boyd BJ, Charman WN, Porter CJ. 2004. Drug solubilization behavior during *in vitro* digestion of suspension formulations of poorly water-soluble drugs in triglyceride lipids. *Pharmaceutical research* **21**:254–260.
- Keane JR, Young JA. 1985. Blepharospasm with bilateral basal ganglia infarction. *Archives of neurology* **42**:1206–1208.
- Kettesen-van den Bosch JJ, Salemink CA. 1978. Cannabis XIX. Oxygenated 1,2-Diphenylethanes from Marihuana. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* **97**:221–222.
- Kim SS, Baik JS, Oh TH, Yoon WJ, Lee NH, Hyun CG. 2008. Biological activities of Korean *Citrus obovoides* and *Citrus natsudaidai* essential oils against acne-inducing bacteria. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **72**:2507–2513.
- Komori T, Fujiwara R, Tanida M, Nomura J, Yokoyama MM. 1995. Effects of citrus fragrance on immune function and depressive states. *Neuroimmunomodulation* **2**:174–180.
- Köse EO, Deniz IG, Sarıkürkçü C, Aktaş Ö, Yavuz M. 2010. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Sideritis erythrantha* Boiss. and

Heldr. (var. *erythrantha* and var. *cedretorum* PH Davis) endemic in Turkey. Food and chemical toxicology **48**:2960–2965.

Kramer JL. 2015. Medical marijuana for cancer. CA: a cancer journal for clinicians **65**:109–122.

Kršiak M. 2012. Farmakologie kanabinoidů. Revue České lékařské akademie **8**:5–7.

Lachenmeier DW, Walch SG. 2006. Current status of THC in German hemp food products. Journal of Industrial Hemp **10**:5–17.

Lamy FR, Daniulaityte R, Sheth A, Nahhas RW, Martins SS, Boyer EW, Carlson RG. 2016. “Those edibles hit hard”: Exploration of Twitter data on cannabis edibles in the US. Drug and alcohol dependence **164**:64–70.

Larsson K, Cavonius L, Alminger M, Undeland I. 2012. Oxidation of cod liver oil during gastrointestinal *in vitro* digestion. Journal of agricultural and food chemistry **60**:7556–7564.

Lehmann T, Brenneisen R. 1995. High performance liquid chromatographic profiling of cannabis products. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies **18**:689–700.

Leung J, Chiu CYV, Stjepanović D, Hall W. 2018. Has the Legalisation of Medical and Recreational Cannabis Use in the USA Affected the Prevalence of Cannabis Use and Cannabis Use Disorders?. Current Addiction Reports **5**:403–417.

Levin RJ. 1994. Digestion and absorption of carbohydrates—from molecules and membranes to humans. The American journal of clinical nutrition **59**:690–698.

Lewis MA, Russo EB, Smith KM. 2018. Pharmacological foundations of cannabis chemovars. Planta medica **84**:225–233.

Linares IMP, Crippa JAS, Chagas MHN. 2017. Beneficial Effects of Cannabis and Related Compounds on Sleep. Pages 877–882 in Preedy VR, editor. Handbook of Cannabis and Related Pathologies. Academic Press.

Liu J, et al. 2006. A biosynthetic pathway for anandamide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**:13345–13350.

Loghmani KH, Sabzi FO, Safari J. 2007. Essential oil composition of *Rosa damascena* Mill cultivated in central Iran. *Scientia Iranica* **14**:316–319.

Machado Rocha FC, Stefano SC, De Cassia Haiek R, Rosa Oliveira LMQ, Da Silveira DX. 2008. Therapeutic use of *Cannabis sativa* on chemotherapy-induced nausea and vomiting among cancer patients: systematic review and meta-analysis. *European journal of cancer care* **17** 431–443.

Maldonado-Valderrama J, Wilde P, Macierzanka A, Mackie A. 2011. The role of bile salts in digestion. *Advances in colloid and interface science* **165**:36–46.

Marco EM, Viveros MP. 2009. The critical role of the endocannabinoid system in emotional homeostasis: avoiding excess and deficiencies. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* **9**:1407–1415.

Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. 1990. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* **346**:561–564.

McGilveray IJ. 2005. Pharmacokinetics of cannabinoids. *Pain Research and Management* **10** (Suppl A):15–22.

Mechoulam R, et al. 1995. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical pharmacology* **50**:83–90.

Mechoulam R, Hanuš LO. 2000. A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chemistry and physics of lipids* **108**:1–13.

Mechoulam R, Parker LA, Gallily R. 2002. Cannabidiol: an overview of some pharmacological aspects. *The Journal of Clinical Pharmacology* **42**:11–19.

- Merrick J, Lane B, Sebree T, Yaksh T, O'Neill C, Banks, SL. 2016. Identification of psychoactive degradants of cannabidiol in simulated gastric and physiological fluid. *Cannabis and Cannabinoid Research* **1**:102–112.
- Millar SA, Stone NL, Yates AS, O'Sullivan SE. 2018. A Systematic Review on the Pharmacokinetics of Cannabidiol in Humans. *Frontiers in pharmacology* **9**:1365.
- Miller BL, Stogner JM, Miller JM. 2016. Exploring butane hash oil use: a research note. *Journal of psychoactive drugs* **48**:44–49.
- Minekus M, et al. 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. *Food & function* **5**:1113–1124.
- Minekus M, Marteau P, Havenaar R. 1995. Multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine. *Alternatives to laboratory animals: ATLA*.
- Miovský M, et al. 2008. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Grada, Praha.
- Miyazawa M, Shindo M, Shimada T. 2002. Metabolism of (+) -and (–) -limonenes to respective carveols and perillyl alcohols by CYP2C9 and CYP2C19 in human liver microsomes. *Drug metabolism and disposition* **30**:602–607.
- Molnar J, Csiszar K, Nishioka I, Shoyama Y. 1986. The effects of cannabispiro compounds and tetrahydrocannabidiolic acid on the plasmid transfer and maintenance in *E. coli*. *Acta Microbiol Hung* **33**:221–231
- Morgan CJ, Freeman TP, Schafer GL, Curran HV. 2010. Cannabidiol attenuates the appetitive effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in humans smoking their chosen cannabis. *Neuropsychopharmacology* **35**:1879.
- Mölleken H, Theimer RR. 1997. Survey of minor fatty acids in *Cannabis sativa* L. fruits of various origins. *Journal of the International Hemp Association* **4**:13–17.

- Mukhopadhyay S, Maitra U. 2004. Chemistry and biology of bile acids. *Current Science* **87**:1666–1683.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. 1993. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* **365**:61.
- Murphy F, Sales P, Murphy S, Averill S, Lau N, Sato SO. 2015. Baby boomers and cannabis delivery systems. *Journal of Drug Issues* **45**:293–313.
- Musshoff F, Madea B. 2006. Review of biologic matrices (urine, blood, hair) as indicators of recent or ongoing cannabis use. *Therapeutic drug monitoring* **28**:155–163
- Nahler G, Grotenhermen F, Zuardi AW, Crippa JA. 2017. A Conversion of Oral Cannabidiol to Delta-9-Tetrahydrocannabinol Seems Not to Occur in Humans. *Cannabis and Cannabinoid Research* **2**:81–86.
- Newton-Howes G. 2017. Cannabis as medicine. *BMJ: British Medical Journal*. **357**.
- Nielsen S, Germanos R, Weier M, Pollard J, Degenhardt L, Hall W, Buckley N, Farrell M. 2018. The use of cannabis and cannabinoids in treating symptoms of multiple sclerosis: a systematic review of reviews. *Current neurology and neuroscience reports* **18**:8
- Ohlsson A, Lindgren JE, Wahlen A, Agurell S, Hollister LE, Gillespie HK. 1980 Plasma delta-9-tetrahydrocannabinol concentrations and clinical effects after oral and intravenous administration and smoking. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **28**:409–416.
- Omar J, Olivares M, Alzaga M, Etxebarria N. 2013. Optimisation and characterisation of marihuana extracts obtained by supercritical fluid extraction and focused ultrasound extraction and retention time locking GC-MS. *Journal of separation science* **36**:1397–1404.
- Pacula RL, Jacobson M, Maksabedian EJ. 2016. In the weeds: a baseline view of cannabis use among legalizing states and their neighbours. *Addiction* **111**:973–980.

- Palafox-Carlos H, Ayala-Zavala JF, González-Aguilar GA. 2011. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of food science* **76**:6–15.
- Pavan B, et al. 2018. Geraniol pharmacokinetics, bioavailability and its multiple effects on the liver antioxidant and xenobiotic-metabolizing enzymes. *Frontiers in pharmacology* **9**:18.
- Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. 2002. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral diseases* **8**:117–129.
- Pedersen DS, Capone DL, Skouroumounis GK, Pollnitz AP, Sefton MA. 2003. Quantitative analysis of geraniol, nerol, linalool, and α -terpineol in wine. *Analytical and bioanalytical chemistry* **375**:517–522.
- Perez-Reyes M. 1990. Marijuana smoking: factors that influence the bioavailability of tetrahydrocannabinol. *NIDA Res Monogr* **99**:42–62.
- Pertwee RG. 2005. Pharmacological actions of cannabinoids. Pages 1–51 in Pertwee RG, editor. *Cannabinoids*. Springer, Berlin.
- Pertwee RG. 2007. Cannabinoids and Multiple Sclerosis. *Molecular Neurobiology* **36**:45–59.
- Pescosolido N, Stefanucci A, Libr A, Pezzino S, Rusciano D. 2018. Evaluation of cannabinoid eye drops on five patients with intractable hypertensive open angle glaucoma. *The Ophthalmologist: Clinical and Therapeutic Journal* **2**.
- Porter BE, Jacobson C. 2013. Report of a parent survey of cannabidiol-enriched cannabis use in pediatric treatment-resistant epilepsy. *Epilepsy & Behavior* **29**:574–577.
- Press CA, Knupp KG, Chapman KE. 2015. Parental reporting of response to oral cannabis extracts for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsy & Behavior* **45**:49–52.
- Procházka T. 2010. Epilepsie u dospělých: klasifikace a léčba. *Psychiatrie pro praxi* **11**:149.

Radwan MM, Wanas AS, Chandra S, ElSohly MA. 2017. Natural Cannabinoids of Cannabis and Methods of Analysis. Pages 161–182 in Chandra S, Lata H, ElSohly MA, editors. *Cannabis sativa* L.- Botany and Biotechnology. Springer, Cham.

Rakhshan F, Day TA, Blakely RD, Barker EL. 2000. Carrier-mediated uptake of the endogenous cannabinoid anandamide in RBL-2H3 cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **292**:960–967.

Raman A, Weir U, Bloomfield SF. 1995. Antimicrobial effects of tea-tree oil and its major components on *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Letters in Applied Microbiology* **21**:242–245.

Rätsch Ch. 1994. Konopí – léčebný prostředek v dějinách lidstva. Datel.

Rätsch Ch. 2012. Marihuana jako lék: etnomedicína, užívání a recepty na léčení konopím. Fontána. Olomouc.

Robinson R. 1996. Velká kniha o konopí. Volvox Globator.

Robytt JF, French D. 1970. The action pattern of porcine pancreatic α -amylase in relationship to the substrate binding site of the enzyme. *Journal of Biological Chemistry* **245**:3917–3927.

Rog DJ, Nurmikko TJ, Friede T, Young CA. 2005. Randomized, controlled trial of cannabis-based medicine in central pain in multiple sclerosis. *Neurology* **65**:812–819.

Romano LL, Hazekamp A. 2013. Cannabis oil: chemical evaluation of an upcoming cannabis-based medicine. *Cannabinoids* **1**:1–11.

Rosenberg EC, Tsien RW, Whalley BJ, Devinsky O. 2015. Cannabinoids and epilepsy. *Neurotherapeutics* **12**:747–768.

Rosenblum JL, Irwin CL, Alpers DH. 1988. Starch and glucose oligosaccharides protect salivary-type amylase activity at acid pH. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **254**:775–780.

- Rosenthal E. 2011. The big book of buds, volume 4: Marijuana varieties from the World's great seed breeders. Quick American Archives, USA.
- Ross SA, ElSohly MA. 1996. The volatile oil composition of fresh and air dried buds of *Cannabis Sativa*. *Journal of Natural Products* **59**:49–51.
- Rovetto LJ, Aieta NV. 2017. Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. *The Journal of Supercritical Fluids* **129**:16–27.
- Ruman M. 2014. Cannabis – konopí: Průvodce světem univerzální rostliny. Malý princ, Praha.
- Russo EB. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British journal of pharmacology* **163**:1344–1364.
- Russo EB, Guy GW, Robson PJ. 2007. Cannabis, pain, and sleep: lessons from therapeutic clinical trials of Sativex®, a cannabis-based medicine. *Chemistry & biodiversity* **4**:1729–1743.
- Russo EB, McPartland JM. 2003. Cannabis is more than simply Δ 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology* **165**:431–432.
- Sahlem GL, Tomko RL, Sherman B, Gray KM, McRae-Clark AL. 2018. Impact of cannabis legalization on treatment and research priorities for cannabis use disorder. *International Review of Psychiatry* **30**:216–225.
- Samuel P. 2016. History of medical cannabis. *Journal of Pain Management* **9**:387.
- Santibanez RA, Sepelhy AA, Hsiung GYR. 2017. Cannabis and Alzheimer's disease: A systematic review of the evidence. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association* **13**:614.
- Sarmiento L, Carus M, Grotenhermen F, Kruse D, Brenneisen R, Grassi G, Knapsack C. 2015. Scientifically sound guidelines for THC in food in Europe. Report of nova-Institut GmbH.

- Scannapieco FA, Torres G, Levine MJ. 1993. Salivary α -amylase: role in dental plaque and caries formation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* **4**:301–307.
- Schauer GL, King BA, Bunnell RE, Promoff G, McAfee TA. 2016. Toking, vaping, and eating for health or fun: marijuana use patterns in adults, US, 2014. *American journal of preventive medicine* **50**:1–8.
- Schmidt L, Göen T. 2017. Human metabolism of α -pinene and metabolite kinetics after oral administration. *Archives of toxicology* **91**:677–687.
- Schmidt L, Göen T. 2017. R-Limonene metabolism in humans and metabolite kinetics after oral administration. *Archives of toxicology* **91**:1175–1185.
- Schneir AB, Cullen J, Ly BT. 2011. “Spice” girls: synthetic cannabinoid intoxication. *The Journal of emergency medicine* **40**:296–299.
- Schulze K. 2006. Imaging and modelling of digestion in the stomach and the duodenum. *Neurogastroenterology & Motility* **18**:172–183.
- Seidl Z. 2015. *Neurologie pro studium i praxi*. Grada, Praha.
- Sharma P, Murthy P, Bharath MS. 2012. Chemistry, metabolism, and toxicology of cannabis: clinical implications. *Iranian journal of psychiatry* **7**:149.
- Shelef A, Barak Y, Berger U, Paleacu D, Tadger S, Plopsky I, Baruch Y. 2016. Safety and efficacy of medical cannabis oil for behavioral and psychological symptoms of dementia: an-open label, add-on, pilot study. *Journal of Alzheimer's disease* **51**:15–19.
- Shook JE, Burks TF. 1989. Psychoactive cannabinoids reduce gastrointestinal propulsion and motility in rodents. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **249**:444–449.
- Sieradzan KA, Fox SH, Hill M, Dick JPR, Crossman AR, Brotchie JM. 2001. Cannabinoids reduce levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: a pilot study. *Neurology* **57**:2108–2111.

- Silbernagl S, Lang F. 2012. Atlas patofyziologie. 2. české vydání. Grada, Praha.
- Sitrin MD. 2014. Digestion and Absorption of Carbohydrates and Proteins. Pages 137–158 in Leung P, editor. The Gastrointestinal System. Springer, Dordrecht.
- Skala T. 2017. Charakteristika a porovnání indoor pěstebních systémů léčebného konopí [BCs. Thesis]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Small E, Jui PY, Lefkovitch LP. 1976. A numerical taxonomic analysis of Cannabis with special reference to species delimitation. Systematic Botany 67–84.
- Smith JL. 2003. The role of gastric acid in preventing foodborne disease and how bacteria overcome acid conditions. Journal of food protection 66:1292–1303.
- Stiefel DJ, Keller PJ. 1973. Preparation and some properties of human pancreatic amylase including a comparison with human parotid amylase. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology 302:345–361.
- Stivala LA, et al. 2001. Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. Journal of Biological Chemistry 276:22586–22594.
- Stogner JM, Miller BL. 2015. Assessing the dangers of “dabbing”: mere marijuana or harmful new trend?. Pediatrics 136:1–3.
- Tavares L, Figueira I, McDougall GJ, Vieira HL, Stewart D, Alves PM, Ferreira RB, Santos CN. 2013. Neuroprotective effects of digested polyphenols from wild blackberry species. European Journal of Nutrition 52:225–236.
- Tomida I, Pertwee G, Azuara-Blanco A. 2004. Cannabinoids and glaucoma. British journal of ophthalmology 88:708–713.

Tomlinson CL, Stowe R, Patel S, Rick C, Gray R, Clarke CE. 2010. Systematic review of levodopa dose equivalency reporting in Parkinson's disease. *Movement disorders* 25:2649–2653.

Trofin IG, Dabija G, Vaireanu DI, Filipescu L. 2012. The influence of long-term storage conditions on the stability of cannabinoids derived from cannabis resin. *Rev Chim Bucharest*, 63:422–427.

Turner CE, ElSohly MA. 1981. Biological activity of cannabichromene, its homologs and isomers. *The Journal of Clinical Pharmacology* 21:283–291.

Turner CE, ElSohly MA, Boeren EG. 1980. Constituents of *Cannabis Sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. *Journal of Natural Products* 43:169–234.

Tzadok M, et al. 2016. CBD-enriched medical cannabis for intractable pediatric epilepsy: the current Israeli experience. *Seizure* 35:41–44.

Ujváry I, Hanuš LO. 2016. Human metabolites of cannabidiol: a review on their formation, biological activity, and relevance in therapy. *Cannabis and Cannabinoid Research* 1:90–101.

United Nations Office on Drugs and Crime. 2009. Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products. United Nations Publications.

Vandevenne M, Vandebussche H, Verstraete A. 2000. Detection time of drugs of abuse in urine. *Acta Clinica Belgica* 55:323–333.

Vandrey R, Raber JC, Raber ME, Douglass B, Miller C, Bonn-Miller MO. 2015. Cannabinoid dose and label accuracy in edible medical cannabis products. *Jama* 313:2491–2493.

Vanhoenacker G, Van Rompaey P, De Keukeleire D, Sandra P. 2002. Chemotaxonomic features associated with flavonoids of cannabinoid-free cannabis (*Cannabis sativa* subsp. *sativa* L.) in relation to hops (*Humulus lupulus* L.). *Natural product letters* 16:57–63.

Vardakou M, Mercuri A, Barker SA, Craig DQ, Faulks RM, Wickham MS. 2011. Achieving antral grinding forces in biorelevant *in vitro* models: comparing the USP dissolution apparatus II and the dynamic gastric model with human *in vivo* data. *American Association of Pharmaceutical Scientists* **12**:620–626.

Veit M. 2014. *Léčivá kosmetika z přírody: Jak si vyrobit hojivé masti, oleje a esence*. Grada, Praha.

Vergheze J, Milling C, Rosenbaum DM. 1999. Ptosis, blepharospasm, and apraxia of eyelid opening secondary to putaminal hemorrhage. *Neurology* **53**:652–652.

Versantvoort CH, Oomen AG, Van de Kamp E, Rompelberg CJ, Sips AJ. 2005. Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology* **43**:31–40.

Wagner H, Ulrich-Merzenich G. 2009. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* **16**:97–110.

Walker WA. 2004. *Pediatric gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management* (Vol. 1). PMPH – USA.

Wall ME, Sadler BM, Brine D, Taylor H, Perez-Reyes M. 1983. Metabolism, disposition, and kinetics of delta-9-tetrahydrocannabinol in men and women. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **34**:352–363.

Wang XS, Tang CH, Yang XQ, Gao WR. 2008. Characterization, amino acid composition and *in vitro* digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins. *Food Chemistry* **107**:11–18.

Wang Z, Wei X, Yang J, Suo J, Chen J, Liu X, Zhao X. 2016. Chronic exposure to aluminum and risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Neuroscience letters* **610**:200–206.

Ware MA. 2014. Synthetic psychoactive cannabinoids licensed as medicines. Pages 393–414 in Pertwee RG, editor. *Handbook of cannabis*. Oxford University Press, USA.

- Ware MA, Rueda S, Singer J, Kilby D. 2003. Cannabis use by persons living with HIV/AIDS: patterns and prevalence of use. *Journal of Cannabis Therapeutics* **3**:3–15.
- Watanabe K, Itokawa Y, Yamaori S, Funahashi T, Kimura T, Kaji T, Usami N, Yamamoto I. 2007. Conversion of cannabidiol to Δ^9 -tetrahydrocannabinol and related cannabinoids in artificial gastric juice, and their pharmacological effects in mice. *Forensic Toxicology* **25**:16–21.
- Weston-Green K. 2018. *The United Chemicals of Cannabis: Beneficial Effects of Cannabis Phytochemicals on the Brain and Cognition. Recent Advances in Cannabinoid Research.* IntechOpen.
- Wie MB, Won MH, Lee KH, Shin JH, Lee JC, Suh HW, Kim YH. 1997. Eugenol protects neuronal cells from excitotoxic and oxidative injury in primary cortical cultures. *Neuroscience letters* **225**:93–96.
- Whitcomb DC, Lowe ME. 2007. Human pancreatic digestive enzymes. *Digestive diseases and sciences* **52**:1–17.
- Zgair A, et al. 2016. Dietary fats and pharmaceutical lipid excipients increase systemic exposure to orally administered cannabis and cannabis-based medicines. *American journal of translational research* **8**:3448–3459.
- Zgair A, et al. 2017. Oral administration of cannabis with lipids leads to high levels of cannabinoids in the intestinal lymphatic system and prominent immunomodulation. *Scientific reports* **7**:14542.
- Zhang L, et al. 2015. Cannabis smoking and lung cancer risk: Pooled analysis in the International Lung Cancer Consortium. *International journal of cancer* **136**:894–903.
- Zuardi AW. 2006. History of cannabis as a medicine: a review. *Revista Brasileira de Psiquiatria* **28**:153–157

Internetové zdroje

Endoca LLC. 2019. FAQ. Endoca, USA. Available from <https://www.endoca.com/> (accessed February 2019).

Ministerstvo zdravotnictví. 1998. Zákon č. 167 ze dne 11. června 1998 o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Pages 6770–6781 in Sběrka zákonů české republiky, 2004, částka 57. Česká republika.

Ministerstvo zdravotnictví. 2015. Vyhláška č. 236 ze dne 17. října 2015 o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Pages 2978–2984 in Sběrka zákonů České republiky, 2015, částka 98. Česká republika.

NIST. 2018. Standard Reference Database. U.S. Secretary of Commerce, USA. Available from <https://www.nist.gov/> (accessed March 2019).

Seed Finder. 2019. Strain Databse. Seed Finder. Available from <https://en.seedfinder.eu/> (accessed January 2019).

9 Seznam obrázků, tabulek a grafů

Obrázky

Obrázek č. 1: Druhy konopí

Obrázek č. 2: Strukturní vzorec THC

Obrázek č. 3: Strukturní vzorec CBD

Obrázek č. 4: Strukturní vzorec CBN

Obrázek č. 5: Strukturní vzorec anandamidu

Obrázek č. 6: Schéma znázorňující průběh *in vitro* digesce

Tabulky

Tabulka č. 1: Nejběžněji se vyskytující terpeny v konopí

Tabulka č. 2: Množství a koncentrace zásobních roztoků solí

Tabulka č. 3: Profil stanovených terpenů v konopných extraktech

Tabulka č. 4: Podmínky analýzy terpenů GC/Q-TOF

Tabulka č. 5: Podmínky analýzy terpenů GC/FID

Tabulka č. 6: Podmínky analýzy THC GC/FID

Tabulka č. 7: Seznam chemikálií pro výrobu zásobních roztoků

Grafy

Graf č. 1: Časový průběh subjektivních účinků při různých způsobech podání*. Hodnocení stupně "high" bylo provedeno subjekty na úrovni 0 až 10 (nejvyšší).

Graf č. 2: Množství THC (%) v extraktech

Graf č. 3: Relativní úbytky THC v gastrické a intestinální fázi vztahované k původnímu extraktu (100 %) během trávení (%)

Graf č. 4: Srovnání obsahu THC před trávením a po trávení (%)

Celkové množství terpenů ve vzorcích vztahováno k ploše interního standardu (součet ploch píků)

Graf č. 6: Relativní úbytek terpenů během trávení (%)

Graf č. 7: Relativní množství vybraných terpenů v extraktech (%)

Graf č. 8: Relativní množství vybraných terpenů v extraktech (%)

Graf č. 9: Relativní úbytek vybraných terpenů v gastrické fázi (%)

Graf č. 10: Relativní úbytky vybraných terpenů v gastrické fázi (%)

Graf č. 11: Relativní úbytky vybraných terpenů v intestinální fázi (%)

Graf č. 12: Relativní úbytek vybraných terpenů v intestinální fázi (%)

10 Samostatné přílohy

Příloha č. 1: Vybrané nemoci

Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (Alzheimer's disease, AD) je neurodegenerativní onemocnění, při kterém dochází k postupné demenci. V současnosti není známa příčina vzniku tohoto onemocnění, z neuropatologických nálezů na mozcích postižených se však ví, jak nemoc probíhá. Změny postupně způsobují rozpad nervových vláken a nervových buněk. Nervové buňky a synapse jsou poškozeny a poté zanikají vlivem usazování různých proteinů v podobě vláken, nebo amyloidových plaků v okolí nervových buněk. Dochází k úbytku acetylcholinu, díky němuž dochází k nervovým vzruchům (Rätsch 2012). Dle mnoha studií, které proběhly za poslední roky se na prevalenci AD podílí hliník, který je běžnou součástí například kuchyňského nádobí (Wang et al. 2016).

Jiráček & Koukolík (2004) definují demenci jako skupinu duševních poruch, jejichž nejzákladnější charakteristický rys je podstatný úbytek kognitivních funkcí, především paměti a intelektu, jako důsledek určitého onemocnění mozku. Demence je syndrom, který zahrnuje různé symptomy, a to nejen z oblasti kognitivních funkcí. Výsledkem je pak celková degradace duševních činností postiženého, ubývající schopnosti běžných denních aktivit, nakonec ztráta schopnosti samostatné existence.

Tato choroba je nejčastější příčinou syndromu demence. Projevuje se poruchou kognitivních funkcí, myšlení, paměti, orientace v čase a prostoru, soustředění, řeči, schopnosti koncentrace a funkcí exekutivních (schopnosti plánovat a organizovat). Jedná se o onemocnění, které bylo popsáno Aloisem Alzheimerem v prvním desetiletí dvacátého století (Baštecký et al. 1994).

Konopí a jeho účinky na AD jsou předmětem mnoha studií již několik let. Studie z roku 2004 naznačuje, že kanabidiol vykazuje kombinaci neuroprotektivních a antioxidačních účinků proti toxicitě β -amyloidového peptidu, který je zodpovědný za neurodegenerativní pochody v mozku (Iuvone et al. 2004).

V jiné studii, která byla vypracována v roce 2006, byly prezentovány důkazy, že látky z konopí poskytují nejen zmírnění symptomů, ale účinně dokáží potlačit tvorbu nových amyloidových plaků v mozku. THC kompetitivně inhibuje enzym acetylcholinesterázu (AChE)

a zabraňuje tak agregaci β -amyloidových peptidů, které jsou indukovány právě enzymem AChE (Eubanks et al. 2006).

Ve studii z roku 2016 byl podáván konopný extrakt s obsahem THC jedenácti pacientům s AD po dobu čtyř týdnů, 10 pacientů studii dokončilo a všichni pocítovali výrazné zlepšení symptomů (Shelef et al. 2016).

Naopak výsledky v nedávné studii z roku 2017, která srovnávala již proběhlé studie, nenaznačují, že by látky obsažené v rostlinách konopí měly vliv na progresy AD, nebo zlepšovaly příznaky demence (Santibanez et al. 2017).

Je třeba provést ještě řadu výzkumů s větším počtem subjektů, aby měly výsledky větší vypovídající hodnotu. A to nejen u AD, ale i u ostatních onemocnění (Ahmed et al. 2015).

Zelený zákal (Glaukom)

Glaukom je souhrnné pojmenování pro různá onemocnění oka, při kterých dochází ke ztrátě nervových buněk sítnice a jejich vláken. V zorném poli se tak vytvářejí defekty, které postupem času zhoršují zrak. Příčinou tohoto onemocnění je nedostatečný odtok oční tekutiny, která v oku zvyšuje tlak. Buňky jsou zvýšeným tlakem postupně poškozovány a nemoc může vyústit až v trvalou slepotu. K nárůstu nitroočního tlaku může dojít kdykoliv nezávisle na věku postižené osoby (Flammer 2003).

Látky obsažené v konopí, zejména pak THC a CBD mohou velmi efektivně snižovat nitrooční tlak u pacientů, kde jiná léčba nepomohla (Pescosolido et al. 2018). Schopnost kanabinoidů snižovat nitrooční tlak byly prokázány již v minulosti během pokusů na laboratorních zvířatech. Aplikace konopí je možná několika způsoby, a to například očními kapkami či kouřením (Conrad 2001). Výhodou léčby konopím namísto konvenčních léků je absence poškození ledvin a jater, které mohou běžně dostupné léky způsobit (Robinson 1998). Nevýhodou pak může být pro pacienta celkové snížení krevního tlaku, popřípadě psychotropní účinky a vznik tolerance na účinné látky (Tomida et al. 2004).

Parkinsonova nemoc (PD)

Parkinsonova nemoc je chronické, degenerativní onemocnění, při kterém dochází k odumírání buněk v CNS. Hlavní příčinou je úbytek nervových buněk v části mozku nazývaném *substantia nigra* (černá substance). To vede následně ke snížení produkce dopaminu, který patří mezi neurotransmitery starající se o přenos nervového vzruchu mezi

neurony. Odumírání dopaminergních buněk se projeví až po čase, kdy klesne celková hladina dopaminu pod 20–30 % normy. Do té doby se typické příznaky nemoci neprojeví díky kompenzačním mechanismům v CNS (Jedlička & Keller 2005).

Onemocnění se projevuje poruchami celkového držení těla, špatnými pohyby a komunikací. Mezi typické příznaky patří především svalová ztuhlost, třes končetin, zpomalení, až téměř naprostá absence pohybů a deprese (Miovský et al. 2008).

Největší množství kanabinoidních receptorů CB1 se nachází v *substantia nigra* a části bazálních gangliích zvanou globus pallidus (GPI), která jsou součástí koncového mozku (Keane & Young 1985). S tím souvisí koncentrace anandamidu, kterého je v této části CNS třikrát více, než v jiných částech CNS (Verghese et al. 1999). Nejčastěji indikovaný lék na PD je levodopa. Jedná se o prekurzor dopaminu, který může přestoupit přes hematoencefalickou bariéru. Samotný dopamin z krve do mozku přestoupit nedokáže (Tomlinson et al. 2010). Účinky levodopy postupem času klesají a může se objevit dyskineze, která je typická mimovolnými záškuby způsobenými zvýšenou aktivitou bazálních ganglií (Bezard et al. 2001). Stimulace kanabinoidních receptorů v GPI snižuje zpětné vychytávání kyseliny γ -aminomaslové (GABA), což je inhibiční neurotransmitter, který je odpovědný za svalový tonus. Snížením zpětného vychytávání GABA tak může dojít ke zmírnění dyskineze (Sieradzan et al. 2001).

Roztroušená skleróza (RS)

RS je další z řady nemocí, která postihuje CNS. Během průběhu této nemoci dochází k napadení a následnému poškození myelinu (ochranná vrstva nervových vláken) v neuronech a dendritech (Pertwee 2007). RS je definována jako autoimunitní onemocnění, jehož příčina není doposud známa (Seidl 2015). S postupem rozvoje nemoci dochází k napadání myelinu T-lymfocyty. V důsledku tohoto procesu vzniká zánět, který vede k postupné destrukci buněk (Silbernagl & Lang 2012). Úbytek mozkových buněk je doprovázen klesající činností neurotransmitterů a u pacienta se projevují typické symptomy, mezi které patří: únavový syndrom, bolesti, třes, křeče, spastická paréza, deprese, změny vnímání tepla, nebo poruchy vyprazdňování a spánku a sexuální dysfunkce (Havrdová 2015).

Farmakologické účinky THC, CBD a ostatních kanabinoidů v podobě extraktu pomáhají zmírňovat bolest u pacientů s RS, kterou může trpět až polovina postižených (Rog et al. 2005). Dle řady studií pomáhá konopí zmírňovat také spasticitu (Nielsen et al. 2018). Spasticita je

jedním z nejčastějších projevů RS v pozdní fázi, při které dochází k poruchám chůze, někdy až k nemožnosti chodit. Poškozeny mohou být i horní končetiny (Havrdová 2013).

Rakovina

Za normálního stavu se buňky v těle množí podle určitého řádu, především pak, když je tělo potřebuje. Proces vývoje buňky má několik fází, jejíž doba je variabilní a v konečné fázi probíhá vlastní rozdělení buňky neboli cytogeneze. Fáze buněčného cyklu regulují specifické skupiny proteinů. Mutace genů, které kódují tyto proteiny, spouštějí proces kancerogeneze. Začne nadměrná produkce buněk a vzniká nádorová tkáň, která se rozlišuje na 2 typy. Prvním jsou benigní nádory. Jedná se o nezhoubnou tkáň, která neprorůstá do jiných orgánů, obvykle roste velmi pomalu a je nezhoubná. Druhým typem jsou maligní nádory neboli karcinomy. Tento typ rakoviny prorůstá do okolních tkání a tím je poškozuje. Pronikají do krevního i lymfatického oběhu, skrze který se dostanou dále do organismu a mohou způsobit druhotná nádorová ložiska neboli metastázy (Abrahámová 2004).

Mezi nejvýznamnější léčbu rakoviny patří chemoterapie. Léčba spočívá v nitrožilní aplikaci toxických, chemických látek, které postihují rakovinné buňky. Zároveň však mají tyto látky mnoho vedlejších účinků, mezi které patří selhání ledvin, krvácení, ztráta vlasů, poruchy spánku, a především těžká nauzea (nevolnost, nutkání na zvracení). Mnoho pacientů popisuje chemoterapii jako horší, než nemoc samotnou a léčbu často přeruší (Grinspoon & Bakalar 1996).

Konopí pomáhá při mírnění obtíží spojených s chemoterapií, především s nevolností a ztrátou chuti k jídlu, dále pomáhá tišit případné bolesti (Hanuš 2011). Několik studií uvádí, že užívání léků s obsahem kanabinoidů zmírňuje zvracení a zvyšuje chuť k jídlu více, než některé komerční léky neobsahující kanabinoidy (Machado Rocha et al. 2008). Účinné látky z konopí se podávají orálně (dronabinol), nebo je možné konopí přímo kouřit. Zastánci kouření konopí pro zmírnění obtíží spojených s chemoterapií dávají přednost jeho inhalaci z několika důvodů, kterými jsou například rychlejší nástup účinku, než je při podání orálně, nebo lepší dávkování (Miovský et al. 2008). Některé studie dávají do souvislosti kouření konopí s vyšším výskytem rakoviny plic (Aldington et al. 2008). Ale například výzkum z roku 2015 nepotvrdil zvýšený výskyt karcinomu plic u pravidelných kuřáků konopí (Zhang et al. 2015).

Kromě zmírnění vedlejších účinků chemoterapie kanabinoidy roste počet *in vitro* studií a studií na zvířatech, které podporují možný přímý protinádorový účinek kanabinoidů prostřednictvím apoptózy, či inhibice metastáz (Abrams 2016).

Ostatní nemoci

Mezi další onemocnění, na která má konopí pozitivní vliv, patří anorexie u lidí trpících syndromem získaného selhání imunity (AIDS) a virem lidské imunodeficiencie. Člověk, jehož tělo je napadeno virem HIV, reaguje podobně jako na operaci, spáleninu či tumor. Tělo potřebuje dostatek živin, jelikož při tomto onemocnění dochází ve většině případů ke ztrátám hmotnosti (Conrad 2001). Kanabinoidy podporují chuť k jídlu, zlepšují u pacientů náladu a snižují nevolnost. Zároveň se jedná o bezpečný a účinný lék (Beal et al. 1995).

Epilepsie patří mezi další onemocnění CNS. Onemocnění není specifické, ale jedná se o souhrnné pojmenování syndromů a poruch, jejichž projevem je epileptický záchvat. Nemoc se může projevit nezávisle na věku nebo pohlaví (Faber 1995). Jedna z definic popisuje epilepsii jako skupinu poruch a syndromů, kterým je společný výskyt epileptických záchvatů. Epileptické záchvaty jsou definovány jako přechodně se objevující příznaky, které jsou důsledkem nadměrné či abnormně synchronní aktivity neuronů v mozku (Procházka 2010).

Konopný extrakt s obsahem CBD vyšším, než je THC, prokazatelně zmírňuje četnost a intenzitu epileptických záchvatů u dětí (Porter & Jacobsen 2013; Press et al. 2015; Tzadok et al. 2016). Dále je možné zlepšení chování, bdělosti, komunikace a motorických funkcí. U některých pacientů však může podání CBD záchvaty zhoršit. Mezi vedlejší účinky může patřit ospalost, únava, či gastrointestinální poruchy (Tzadok et al. 2016). Dle závěru rozsáhlé studie z roku 2015 CBD a ostatní kanabinoidy úspěšně potlačují záchvaty nejen u dětských pacientů, ale i u dospělých, zejména pak u pacientů, kteří jsou rezistentní k léčbě. Zůstávají však otázky ohledně mechanismu působení, bezpečnosti a účinnosti užívání kanabinoidů z dlouhodobého i krátkodobého hlediska (Rosenberg et al. 2015).

Léčebné konopí může být předepsáno v České republice také na úrazy páteře s poškozením míchy, úrazy mozku, povrchové dermatitidy, slizniční léze, nebo Touretův syndrom (Vyhláška č. 236/2015 Sb).

Příloha č. 2: Tabulkové přílohy

Tabulka č. 7: Seznam chemikálií pro výrobu zásobních roztoků

Složka	Výrobce
KCL	Lachema
KH ₂ PO ₄	Lachema
NaHCO ₃	Lach-Ner
NaCl	Penta, ČR
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	Lach-Ner
(NH ₄) ₂ CO ₃	Lach-Ner
NaOH	Penta, ČR
HCL	Penta, ČR
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	Sigma