

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra kvality a bezpečnosti potravin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Porovnání majoritních složek v různých genotypech  
konopí (*Cannabis sativa L.*) a rostlin s podobným složením  
těkavých látek, za účelem výcviku služebních psů**

**Diplomová práce**

**Bc. Tereza Kubcová**  
**Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů**

**Ing. Anežka Kosmáková Janatová, Ph. D**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Porovnání majoritních složek v různých genotypech konopí (*Cannabis sativa L.*) a rostlin s podobným složením těkavých látek, za účelem výcviku služebních psů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. 4. 2024

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou upřímně poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Anežce Kosmákové Janatové, PhD. za všechny její hodnotné rady, a především za její klidný a nesmírně ochotný přístup. Její nadhled a široké znalosti v oboru mi pomohly nahlížet na problematiku práce komplexně a získat cenné znalosti o pěstování a využití konopí obecně. Dále bych chtěla poděkovat všem mým přátelům, kteří mi, byť jen radou, při studiu pomohli. Velký dík patří celé mojí rodině, a to především rodičům, za celkovou podporu během studia.

# **Porovnání majoritních složek v různých genotypech konopí (*Cannabis sativa L.*) a rostlin s podobným složením těkavých látek, za účelem výcviku služebních psů**

## **Souhrn**

Konopí (*Cannabis sativa L.*) je řazeno mezi nejstarší lidmi využívanou rostlinu na světě. Vzhledem ke své chemické komplexnosti nabízí rostlina konopí člověku široké spektrum využití. Konopí se stalo brzy oblíbeným z důvodu svých léčebných schopností, ale také pro své psychomodulační účinky, což vlády většiny států světa přimělo k jeho kriminalizaci. Speciálně vycvičení psi jsou velmi efektivním nástrojem pro vyhledávání konopí, avšak není zcela jasné, kterou komponentou v pachové směsi se pes při detekci řídí a která komponenta je specifická přímo pro daný typ hledaného produktu.

Hlavním cílem této práce bylo identifikovat a relativně kvantifikovat majoritní účinné látky v pěti genotypech konopí a rostlinách s podobným terpenickým profilem. Dalším cílem je porovnat výsledky s daty z oboru kynologie a pomocí určit, která z konopných látek či jejich směsi je pro psi při detekci klíčová. V první části literární rešerše jsou popsány obecné informace a charakteristiky rostliny konopí. V hlavní části rešerše jsou přehledně popsány látky terpenické a kanabinoidní povahy obsažené v konopí a dalších rostlinách, zejména vybraných pro tento experiment.

Pro tento výzkum bylo použito 5 genotypů konopí vypěstovaných na Fakultě potravinových a přírodních zdrojů v České zemědělské univerzitě, a to SH5 – Shaman, BB3 – Blueberry, CBD6 – CBD karamel, CBD – kanabidiol a FF5 – Forbidden Fruit. Dále bylo pro tento pokus použito 10 siličnatých rostlin, a to šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*), máta peprná (*Mentha piperita*), levandule lékařská (*Lavandula officinalis*), tymián obecný (*Thymus vulgaris*), yzop lékařský (*Hyssopus officinalis*), kmín kořenný (*Carum carvi*), meduňka lékařská (*Melissa officinalis*), bedrník anýz (*Pimpinella anisum*), šanta kočičí (*Nepeta cataria*) a dobrromysl obecná (*Origanum vulgare*).

Kanabinoidy byly analyzovány na HPLC/UV, kdy nejvíce zastoupenými byly kyselina tetrahydrokanabinolová,  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol, kyselina kanabidiolová a kanabidiol. Pomocí GC-FID bylo identifikováno 31 látek terpenické povahy, přičemž nejvíce zastoupenými byly  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -myrcen, limonen, linalool,  $\beta$ -karyofylen,  $\alpha$ -humulen a  $\beta$ -eudesmol.

Současné výcvikové metody detekčních psů jsou založeny zejména na vtiskávání pachu celých matric. U takto cvičených psů dochází ovšem dosti často k falešně pozitivním výsledkům, kdy pes značí i jiné produkty. Studie porovnání látek terpenické povahy v konopí a siličnatých rostlinách jemu podobných mají společně s daty z oboru kynologie potenciál pomoci určit, která z konopných látek či jejich směsi je pro psi při detekci klíčová. Bližší pochopení mechanismu detekce konopí psy by mělo být v zájmu dalších výzkumů, protože detekční psi jsou velmi efektivním nástrojem při detekci konopí.

**Klíčová slova:** konopí, aromatické rostliny, kanabinoidy, terpenoidy, plynová chromatografie, služební psi

# **Comparison of major components in different genotypes of cannabis (*Cannabis sativa* L.) and plants with similar composition of volatile substances, for the purpose of training service dogs**

## **Summary**

Cannabis (*Cannabis sativa* L.) is ranked among the oldest human-used plant in the world. Due to its chemical complexity, the cannabis plant offers a wide range of uses to humans. Cannabis soon became popular because of its therapeutic abilities, but also because of its psychomodulatory effects, which prompted governments of most countries to criminalize it. Specially trained dogs are a very effective tool for cannabis detection, but it is not entirely clear which component in the scent mixture the dog follows during detection, and which component is specific to the particular type of product sought.

The main objective of this work was to identify and relatively quantify the major active substances in five cannabis genotypes and plants with a similar terpenic profile. Another objective is to compare the results with data from the field of cynology and to help determine which of the cannabis substances or their mixtures is crucial for dogs during detection. In the first part of the literary search, general information and characteristics of the cannabis plant are described. In the main part of the research, substances of terpenic and cannabinoid nature contained in cannabis and other plants, mainly selected for this experiment, are described in a clear way.

For this research, 5 genotypes of cannabis grown at the Faculty of Food and Natural Resources of the Czech University of Agriculture were used, namely SH5 – Shaman, BB3 – Blueberry, CBD6 – CBD caramel, CBD – cannabidiol and FF5 – Forbidden Fruit. In addition, 10 silicate plants were used for this experiment, namely sage (*Salvia officinalis*), peppermint (*Mentha piperita*), lavender (*Lavandula officinalis*), thyme (*Thymus vulgaris*), hyssop (*Hyssopus officinalis*), caraway (*Carum carvi*), melissa (*Melissa officinalis*), lump anise (*Pimpinella anisum*), feline shanta (*Nepeta cataria*) and common goodwill (*Origanum vulgare*).

The cannabinoids were analysed for HPLC/UV, with the most represented being tetrahydrocannabinoic acid, Δ9-tetrahydrocannabinol, cannabidiolic acid and cannabidiol. 31 substances of a terpenic nature were identified by GC-FID, with α-pinene, β-pinene, β-myrcene, limonene, linalool, β-karyophylene, α-humulene and β-eudesmol being the most represented.

Current training methods for detection dogs are mainly based on imprinting the odour of whole matrices. However, dogs so trained often have false positive results when the dog also labels other products. Studies comparing substances of a terpenic nature in cannabis and silica plants similar to cannabis, together with data from the field of cynology, have the potential to help determine which of the cannabis substances or mixtures thereof is crucial for cannabis detection in dogs. Further understanding of the mechanism of cannabis detection by dogs should be of interest for further research as detection dogs are a very effective tool in cannabis detection.

**Keywords:** cannabis, aromatic plants, cannabinoids, terpenoids, gas chromatography, service dogs

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce .....</b>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1</b>	<b>Historie .....</b>	<b>11</b>
<b>3.2</b>	<b>Charakteristika rostliny konopí .....</b>	<b>13</b>
3.2.1	Klasifikace konopí .....	13
3.2.2	Taxonomie konopí .....	13
3.2.3	Botanické zařazení .....	14
3.2.4	Cyklus růstu konopí .....	17
3.2.5	Pěstební systémy .....	18
3.2.5.1	Indoorové pěstování .....	18
3.2.5.2	Outdoorové pěstování .....	20
3.2.5.3	Současné trendy v pěstování konopí .....	21
3.2.6	Sklizeň a zpracování .....	21
<b>3.3</b>	<b>Legislativa konopí .....</b>	<b>22</b>
3.3.1	Metody rozdělení konopí pro legislativní účely .....	22
3.3.2	Současná legislativa konopí v Čr.....	22
<b>3.4</b>	<b>Biologicky aktivní látky v konopí .....</b>	<b>24</b>
3.4.1	Kanabinoidy .....	24
3.4.1.1	Endokanabinoidy a endokanabinoidní systém (ECS) .....	24
3.4.1.2	Fytokanabinoidy .....	26
3.4.1.3	Syntetické kanabinoidy .....	29
3.4.2	Terpeny a terpenoidy .....	29
3.4.2.1	Monoterpeny .....	30
3.4.2.2	Seskviterpeny .....	34
3.4.2.3	Diterpeny .....	37
3.4.2.4	Triterpeny .....	37
3.4.3	Ostatní biologicky aktivní látky .....	38
3.4.3.1	Flavonoidy .....	38
3.4.3.2	Stilbenoidy .....	38
3.4.3.3	Alkaloidy .....	38
<b>3.5</b>	<b>Přesnost služebních psů v rozeznávání konopí od ostatních rostlin.....</b>	<b>39</b>
<b>3.6</b>	<b>Extrakční a analytické metody .....</b>	<b>40</b>
3.6.1	Extrakční metody .....	40
3.6.1.1	Destilace .....	40
3.6.1.2	Superkritická fluidní extrakce (SFE).....	40
3.6.2	Analytické metody .....	40
3.6.2.1	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) .....	40
3.6.2.2	Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID) .....	41
3.6.2.3	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) .....	42
<b>4</b>	<b>Materiál a metody .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1</b>	<b>Biologický materiál .....</b>	<b>43</b>
4.1.1	Analyzované genotypy konopí .....	43
4.1.2	Siličnaté rostliny .....	43
4.1.3	Destilace .....	44
<b>4.2</b>	<b>Chemikálie .....</b>	<b>45</b>
<b>4.3</b>	<b>Kvantifikace biologicky aktivních látek.....</b>	<b>45</b>
4.3.1	Příprava vzorku .....	45
4.3.1.1	Homogenizace .....	45

4.3.1.2	Extrakce .....	46
4.3.2	Stanovení kanabinoidů pomocí HPLC/UV .....	46
4.3.3	Stanovení terpenických látek pomocí GC-FID .....	47
<b>4.4</b>	<b>Statistické vyhodnocení.....</b>	<b>47</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>48</b>
5.1	Obsah kanabinoidů v jednotlivých genotypech konopí .....	48
5.3	Obsah terpenických a kanabinoidních látek v siličnatých rostlinách a genotypech konopí	50
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>56</b>
<b>9</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>57</b>
9.1	Internetové zdroje .....	65
<b>10</b>	<b>Seznam použitých zkratek a symbolů .....</b>	<b>66</b>
<b>11</b>	<b>Seznam obrázků a tabulek.....</b>	<b>67</b>
<b>12</b>	<b>Samostatné přílohy .....</b>	<b>69</b>



# 1 Úvod

Konopí (*Cannabis sativa L.*) je řazeno mezi rostliny s dlouhou historií. Jeho kořeny sahají dle archeobotaniky až do období pleistocénu, což odpovídá období přibližně před 2,59 miliony let. Léčivé účinky byly již několik tisíc let známé a hojně využívané především v Číně a okolních územích, odkud se postupně rozšířily do celého světa. Kromě léčebných účinků bylo konopí pěstováno také jako přadná rostlina pro výrobu textilních materiálů, ale i výrobu olejů ze semen a další využití v potravinářství. Konopí je z chemického hlediska velmi komplexní rostlinou, neboť obsahuje více jak 2000 látek, jež mají zastoupení téměř ve všech chemických skupinách. Nejdiskutovanějšími jsou v případě konopí sekundární metabolismus, a sice kanabinoidy s terpeny a terpenoidy, následované flavonoidy, alkaloidy, steroidy, lignany aj.

Vzhledem k obsahu jediného psychoaktivního kanabinoidu,  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu ( $\Delta^9$ -THC), nabyla rekreační užívání konopí velmi rychle popularity, což vlády většiny států světa přimělo k jeho kriminalizaci. V průběhu let však začaly přibývat studie a výzkumy vyzdvuhující blahodárné a léčivé účinky konopí na člověka, což zapříčilo přehodnocení legislativy konopí v mnoha státech po celém světě. Aktuálně tak lze i v České republice dostat předpis na léčebné konopí, případně na jeho preparáty, a vyzvednout si jej zcela bez problému v lékarně.

V rámci udržitelnosti a kontroly systému distribuce konopí jsou obrannými složkami ČR využíváni služební psi, kteří jsou cvičeni na detekci konopí. Princip mechanismu detekce je prozatím z velké většiny záhadou, nicméně je potvrzeno, že psi reagují na látky těkavé povahy, a to terpeny a terpenoidy. Terpeny a terpenoidy potvrzené v konopí se však nenachází pouze v konopí, ale i v široké škále dalších siličnatých rostlin, jejichž pach následně psi často chybě v hodnocují jako pach konopí. Látka nebo kombinace látek terpenické povahy na základě kterých psi považují některé siličnaté rostliny za konopí není plně objasněna. Průzkum a porovnání látek terpenické povahy v konopí a siličnatých rostlinách jemu podobných by mohly společně s daty z oboru kynologie pomoci stanovit, která z konopných látek či jejich směsi je pro psi při detekci rozhodující. Bližší pochopení mechanismu detekce konopí psy by mělo být místem zájmu, neboť detekční psi jsou velmi efektivním nástrojem při detekci konopí.

## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hlavním cílem práce bylo identifikovat a relativně kvantifikovat majoritní účinné látky v pěti genotypech konopí (*Cannabis sativa L.*) a rostlinách s podobným terpenickým profilem. Na základě analýz a vyhodnocení dat z oboru kynologie relativně stanovit, kterou z identifikovaných látek v konopí či jejich směs jsou služební psi obranných složek ČR schopni detektovat.

Hypotézy:

1. Hlavní terpenické látky v genotypech konopí se prokazatelně vyskytují v běžně rostoucích siličnatých rostlinách.
2. Služební psi identifikují konopí na základě detekce určité látky terpenické povahy nebo jejich směsi.

### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Historie

Vyskytuje se mnoho zdrojů čerpajících z historických pramenů, objevů archeobotaniky a evolučních teorií, které směřují první výskyt konopí do staršího období čtvrtohor, pleistocénu, což odpovídá období přibližně před 2,59 miliony let (Tarasov et al. 2007; Voeks 2014).

Data z dalších studií upřesňují doložení existence konopí na éru holocénu, zhruba před 11 700 lety. S největší pravděpodobností pochází tato bylina z oblasti Altajského pohoří ve střední Asii, kde se v současnosti rozkládá území Kazachstánu, Mongolska a Sibiře (Bifulco & Pisanti 2019; Crocq 2020).

Léčivé účinky konopí byly dle mikro i makrofossilií nalezených v rámci archeobotanických objevů lidstvu známé již několik tisíc let. Potvrzují to starověké záznamy od posvátných textů ájurvédske medicíny až po první známý lékopis „Shen Nung Pen Ts’ao Ching“ (Bifulco & Pisanti 2019) vytvořený proslulým čínským císařem Shen Nungem, který žil přibližně v roce 2700 let př. n. l. Postupně se konopí díky migraci začalo rozšiřovat do zbytku světa (Pain 2015), kde bylo v podobě hieroglyfických symbolů a starověké mluvy nazýváno různě, jak je znázorněno na Obrázku 1 (Russo 2007).



Obrázek 1 - Cannabis v několika starobylých jazycích (Russo 2007)

První zmínky o léčivých účincích konopí v oblasti Evropy jsou zaznamenány z doby před Kristem v Řecku, Egyptě a později v Římské říši (Crocq 2020). Konopí se od počátků

zemědělství využívala v místním lidovém lékařství pro terapeutické a rekreační účely. Využíváno bylo zejména kvetenství pro své psychoaktivní účinky nebo semena k extrakci léčebných olejů. Dále se konopí využívalo pro výrobu textilních vláken, protože je významným zdrojem celulózových a dřevitých vláken (Christelle et al. 2016; Bonini et al. 2018)

Pojmenování *Cannabis sativa* nejspíše poprvé použil Fusch ve svém herbáři z roku 1542, kde konopí i velmi věrohodně ilustroval. Carl Linné zhruba o 211 let později zařadil konopí ve své knize „Species Plantarum“ do monotypické třídy. Nedlouho poté popsal Jean Baptiste de Lamarck *Cannabis indica*, jako morfologicky odlišnou, menší a psychoaktivní rostlinu (Russo 2007).

Zavedení léčebného využití konopí v Evropě proběhlo v 19. století orientalistou Silvestre de Sacy a lékaři William Brooke O’Shaughnessy a Jacques-Joseph Moreau, kteří v tomto období přicházeli do styku s indickou a muslimskou kulturou, kde byly účinky konopí již dobře známé (Crocq 2020). W. B. O’Shaughnessy je považován za jednoho z prvních, kdo popsal terapeutické účinky konopí. Díky pracovním návštěvám Indie byl seznámen s poddruhem *Cannabis indica* a všiml si jeho kladných terapeutických účinků v porovnání s *Cannabis sativa*, jež bylo hojně pěstováno v Evropě. Po pečlivém studiu vzorků jejich účinky nejprve vyzkoušel na různých druzích zvířat. Později, když byl přesvědčen o bezpečnosti konopí, ho začal testovat na některých svých pacientech v podobě alkoholických tinktur. Sledoval reakce pacientů s revmatismem, cholerou, epilepsií nebo tetanem a vyzkoušel pozoruhodné myorelační a analgetické vlastnosti rostliny. Vzhledem k výsledkům zhodnotil, že konopí může pomáhat pacientům trpícím silnými epileptickými záchvaty anebo zmírnovat akutní příznaky tetanu.

Velmi podobně ke konopí přistupoval i Jacques-Joseph Moreau, který účinkům konopí podroboval nejdříve sebe a později i své studenty. Na základě svého zkoumání detailně charakterizoval psychoaktivní účinky konopí, které v minulosti sledoval u lidí v Arábii, kteří užívali pravidelně hašiš (Crocq 2020).

Na přelomu 19. a 20. století začalo používání konopí jako léčebného nástroje ustupovat. Jedním z důvodů bylo objevení nových druhů sedativ a analgetik, jako byl například aspirin. V průběhu 20. století se užívání konopí setkalo s mnoha dalšími překážkami, zejména ve Spojených státech. Tato situace byla ovlivněna sérií opatření, jako byl Marihuana Tax Act z roku 1937 následovaný odstraněním konopí z americké farmakokinetiky a zařazením konopí do nejpřísnějšího kontrolního režimu podle Jednotné úmluvy Organizace spojených národů o omamných látkách z roku 1961. Zlatá éra konopí finálně skončila v roce 1970, kdy bylo konopí společně s heroinem v USA klasifikováno jako droga tzv. Schedule 1., což vedlo k zastavení dalšího výzkumu jeho účinků (Crocq 2020).

Výzkum chemické charakteristiky a složení rostliny konopí však dále pokračoval. Během let bylo izolováno nad sto kanabinoidů, včetně dvou nejdiskutovanějších – kanabidiolu (CBD) a  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu ( $\Delta^9$ -THC). Kanabidiol byl poprvé izolován z marihuany v roce 1940, jeho struktura byla formulována v roce 1963 (Crocq 2020). Nedlouho poté, v roce 1964, byla Mechoulamem a Gaonim definována struktura hlavního psychoaktivního fytokanabinoidu,  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu ( $\Delta^9$ -THC), což podnítilo další výzkum této bylinky, a to zejména v oblasti endokanabinoidního systému (ECS). Následně došlo k popsání prvního kanabinoidního receptoru CB1 Devanem a kol. v potkání a lidském mozku. Tentýž tým izoloval jen o 4 roky později první endokanabinoid arachidonylethanolamid (AEA) (Crocq 2020).

Omezení týkající se užívání konopí se v některých státech začaly v posledních několika desítkách let rozvolňovat, a to zejména kvůli jeho farmakologickým a ekonomickým přínosům. Jako první proběhla legalizace marihuany v roce 1996 v Kalifornii, čímž započala komerční výroba poživatin s obsahem marihuany, častěji nazývaných anglickým slovem „edibles“.

Rekreační marihuana byla poprvé zlegalizována v Coloradu v roce 2014 s limitem maximálně 10 mg  $\Delta^9$ -THC na jednu dávku poživatin. Tentýž rok bylo konopí legalizováno v Uruguayi a následně v roce 2022 v Thajsku, jako první asijské zemi (Ziyan et al. 2023). V reakci na dění v některých částech světa, jako je například výše zmíněné Thajsko, některé státy USA nebo Kanada, začaly některé země Evropské Unie otevírat otázku prohibice konopí (Khan & Landwehr 2023).

## 3.2 Charakteristika rostliny konopí

### 3.2.1 Klasifikace konopí

Říše – rostliny (*Plantae*)

Podříše – cévnaté (*Trachobionata*)

Nadoddělení – semenné (*Spermatophyta*)

Oddělení – kvetoucí (*Magnoliophyta*)

Třída – dvouděložné (*Magnoliopsida*)

Podtřída – jehnědokvěté (*Hamamelididae*)

Řád – kopřivotvaré (*Urticale*)

Čeledě – konopovité (*Cannabaceae*)

Rod – konopí (*Cannabis L.*)

Druh – konopí seté (*Cannabis sativa L.*)

(USDA, NRCS. 2024).

### 3.2.2 Taxonomie konopí

Exaktní klasifikace a taxonomické zařazení *Cannabis sativa L.* je již několik staletí součástí diskuse taxonomů. V debatách se vyskytují dva modely klasifikace, a to monotypický a polytypický model, přičemž monotypický model je akceptován velkou většinou botaniků. Monotypický model je založen na tvrzení, že existuje pouze jeden druh *Cannabis* a dva jeho poddruhy, *Cannabis sativa subs. sativa* (konopí), a *Cannabis sativa subs. indica* (marihuana). Monotypický model klasifikace posiluje teorii Carla Linnaea, který označoval *Cannabis sativa* za jediný druh z rodu *Cannabis* a dále je pomocí chemických deskriptorů rozčlenili Small a Cronquist do čtyř diferenciovaných kultivarů, a sice:

*Cannabis sativa subsp. sativa var. sativa* (odrůda konopí s domestikovanými znaky);

*Cannabis sativa subsp. sativa var. spontanea* (odrůda konopí s divokými znaky);

*Cannabis sativa subsp. indica var. indica* (odrůda marihuany s domestikovanými znaky);

*Cannabis sativa subsp. indica var. kafiristanica* (odrůda marihuany s divokými znaky).

V předchozích letech byly provedeny různé studie, které podporují monotypický model klasifikace. Patří mezi ně například studie McPartland a Guy, která se zabývala měřením mezer v čárových kódech v pěti odlišných sekvenčních genů. Průměrná mezera v čárových kódech se

pohybovala mezi  $0,41 \pm 0,26$ , přičemž pro klasifikaci dvou rostlin do dvou rozdílných druhů je potřeba mezera minimálně 1,3-5,7 %, v závislosti na použité sekvenci. Molekulární rozdíly byly tedy natolik nízké, že nelze poddruhy *Cannabis* považovat za dva odlišné druhy.

Jiná studie podporuje teorii monotypického modelu zjištěním vysoké podobnosti genomu chloroplastu konopí a marihuany. Sekvenční podobnost 99,99 % potvrzuje závěr, že konopí a marihuana jsou jedním druhem. Studie Zhanga a kol. navíc naznačila možnou diferenciaci *Cannabis sativa* na tři poddruhy, a to na *subsp. sativa*, *subsp. indica* a *subsp. ruderalis*.

I přes většinové přijímání monotypického modelu klasifikace byl navrhnut i polytypický model. Ten na rozdíl od monotypického modelu připouští existenci více druhů v rodu *Cannabis*. Teorii jednoho druhu poprvé zpochybnil francouzský botanik Jean Baptista de Lamarck. Na základě morfologických a chemických popisů rozlišil rod *Cannabis* na dva druhy – *Cannabis sativa* a *Cannabis indica* Lam. Lamarck sledoval rozdíly v morfologii stonků, větvění, letáků, zápachu a psychoaktivních účincích.

Pozdější sledování dalších vědců poukázalo na rozdíly naznačující výskyt konopí ve více druzích. Příkladem je studie Hilliga a Mahlberga zabývající se zastoupením kanabinoidů ve 157 příručních konopí z odlišných částí světa, jejíž výsledky doporučují rozdělení konopí na dva druhy, a to *Cannabis sativa* a *Cannabis indica*. Ve vědecké obci se dále na základě navržení dalšího druhu konopí *Cannabis ruderalis* Janisch D. E. Janischewským v roce 1924 rozšiřuje i koncept tří různých druhů konopí. Pro třídruhovou klasifikaci argumentuje i Anderson, opírající se o rozdílnou morfologii listů.

Vzhledem k typům provedených studií je důvěryhodnější monotypický model klasifikace, protože na rozdíl od polytypického modelu byl podložen kromě morfologických a chemických studií i těmi molekulárními. Byl nalezen pouze jeden výzkum navrhující multidruhovou kategorizaci konopí pomocí molekulárních popisů. Tento výzkum byl proveden Hilligem a zaznamenal výskyt tří rozdílných genofondů – *Cannabis sativa* (Evropa, Malá Asie, Střední Asie), *Cannabis indica* (Afganistán, Pákistán, Indie, Nepál) a *Cannabis ruderalis* (Střední Asie). Nehledě na existenci tří rozdílných genofondů nepřinesl Hilligův výzkum přesvědčivý důkaz, že počet sledovaných genetických variací ve zkoumaných alelách je dostačující k diferenciaci konopí do více než jednoho druhu (Simiyu et al. 2022).

### 3.2.3 Botanické zařazení

*Cannabis sativa* L. (konopí) je jednoletá, většinou dvoudomá, výjimečně i jednodomá rostlina řazená do čeledi *Cannabaceae* (Russo 2007; Farag & Kayser 2017). Aktuálně je pokládána za jediný druh botanického rodu *Cannabis*, ale zahrnuje několik fenotypů, na které lze pohlížet jako na odrůdy nebo poddruhy. Konopí je poměrně rychle rostoucí krátkodenní rostlina se vztyčeným rýhovaným stonkem (Obrázek 2) dosahující výšky 1 až 4, někdy i 5 metrů (Farag & Kayser 2017) a s průměrem 1 až 3 centimetry. Vzrůst rostliny závisí na několika faktorech, mezi hlavní se řadí odrůda, klimatické podmínky (Hesami et al. 2023), stav půdy, prostředí (Hourface et al. 2023).

Konopná semena mají oválný až mandlovitý tvar a hladký povrch. Velikost semen se pohybuje mezi 2,5 až 3,5 milimetry na délku a 2,5 až 3 milimetry na šířku a obvykle mají hnědošedou barvu, jak je znázorněno na Obrázku 3. Každé semeno je vybaveno dvěma děložními lístky s vysokým obsahem bílkovin a olejů (Hourface et al. 2023).



Obrázek 2 - stonk konopí (Ordoñez 2017)



Obrázek 3 - semena konopí (Vieira 2023)

Rostlina konopí je typická protáhlými strukturovanými květy. Bezprostředně po vyklíčení není možné rozpoznat, zda se jedná o samčí nebo samičí rostlinu. Pohlaví jedince lze určit teprve v posledním stádiu růstu, kdy rostlina rozvíjí kvetenství. Samičí květy postrádají okvětní lístky a jsou tvořeny dvěma dlouhými žlutými, bílými nebo růžovými stigmaty. Vaječník obsahuje vždy jedno vajíčko a je obklopen kalichem o velikosti 3 až 6 milimetrů. Samičí květy se formují v podobě dvojic malých lístků nazývaných listeny, viz Obrázek 4B (Hourface et al. 2023).

Listeny, listy a stonky rostliny hustě pokrývají trichomy, což jsou epidermální žláznaté výčnělky. V těchto žláznatých trichomech se shromažďují sekundární metabolity, jako jsou fytokanabinoidy, které slouží k ochraně a interakci s býložravci a škůdci, a terpenoidy způsobující charakteristickou vůni rostlin konopí (Andre et al. 2016; Bonini et al. 2018). Samčí kvetenství se naopak vyznačuje pěti kališními lístky o délce přibližně 5 milimetrů bílé, žluté nebo zelené barvy, viz Obrázek 4A. V samčích květech dochází k syntéze malých pylotvorných váčků, které následně opylují pomocí chlupatých pryskyřičných stigmat samičí rostlinu (Hourface et al. 2023).

Listy konopí rostou do dlanitého tvaru tvořeného pěti až sedmi protáhlými menšími listy se špičatým okrajem. Každý menší list je ze stran vroubkovaný, viz Obrázek 5. Listy vyrůstají ze stonku vždy protilehlé a směrem k vrcholu rostliny se střídají ve směru růstu, přičemž mezi jednotlivými patry listů je mezena obvykle 10 až 30 centimetrů.

Hlavní kořen rostliny konopí bývá délky přibližně 30 centimetrů, jsou k němu však připojeny ještě postranní kořeny, které mohou být 20 až 100 centimetrů dlouhé. Intenzita růstu kořene z počátku vývoje rostliny neodpovídá intenzitě růstu nadzemní části rostliny, která roste výrazně rychleji (Hourface et al. 2023).



Obrázek 4 - samčí květ (A); samičí květ (B) (Bonini et al. 2018)



Obrázek 5 - list konopí (Britannica 2024)

### 3.2.4 Cyklus růstu konopí

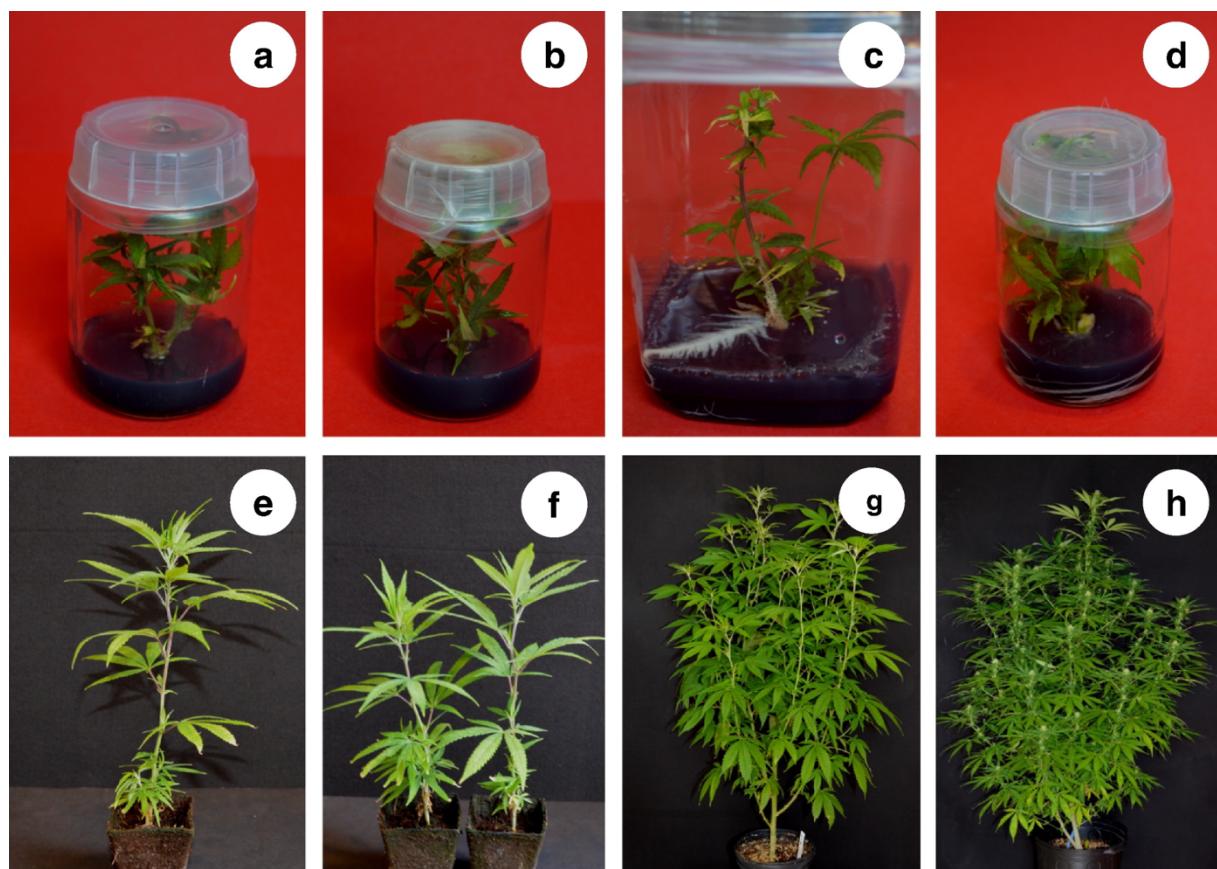
Vývoj rostliny konopí probíhá ve čtyřech fázích – klíčení, juvenilní fáze, vegetativní fáze a kvetení rostliny, viz Obrázek 6. Fáze klíčení obvykle nastává do 3-7 dnů od zasazení (Farag & Kayser 2015), kdy ochranný obal semena pukne, rozevře se a začne absorbovat vodu pro expanzi embrya (Bonini et al. 2018). Během této fáze nedochází k eminentní biosyntéze kanabinoidů a není tak pro většinu konopných průmyslů využitelná.

Na fázi klíčení navazuje fáze juvenilní. Po dobu 2-3 měsíců rostlina konopí značně fototropisuje a její růst směřuje ke zdroji světla o vyhovující vlnové délce, nicméně k významější syntéze kanabinoidů nedochází (Farag & Kayser 2015). Během juvenilní fáze je stejně jako ve fázi klíčení téměř nemožné rozpoznat pohlaví jedince, avšak Mandolino et al. (1999) ve své studii mluví o možnosti využití analýzy RAPD k identifikaci markerů DNA charakteristických pro mužského jedince.

Juvenilní fázi střídá vegetativní fáze vyznačující se intenzivním růstem během dlouhého dne a značnou tvorbou biomasy. V průběhu vegetativní fáze startuje biosyntéza kanabinoidů. Cyklus je ukončen fází kvetení, které nastává zkrácením doby vystavení rostliny dennímu světlu na 12-14 hodin nebo méně. Doba vystavení dennímu světlu vhodná pro kvetení je

proměnlivá pro každý kultivar i jeho zeměpisnou oblast. Po vykvetení se ideální podmínky pro jednotlivá pohlaví odlišují. Samčí rostliny potřebují pro distribuci svého pylu dostatečné proudění vzduchu, aby ho dopravily k samičím květům a došlo k oplodnění a vzniku semen.

Po úspěšném oplodnění se semena vyvíjejí a zrají 3-10 týdnů, přičemž z velké samičí rostliny lze sklidit až kilogram semen. Celková doba vývoje rostliny konopí bývá 2-10 měsíců, přičemž k úhybu samčího jedince dochází bezprostředně před dozráním semen v samičích rostlinách (Farag & Kayser 2015).



Obrázek 6 - fáze vývoje rostliny konopí (a, b – formování výhonku; c, d – zakořenění, e, f – juvenilní fáze; g – vegetativní fáze; h – fáze kvetení) (Chandra et al. 2017)

### 3.2.5 Pěstební systémy

Pěstování konopí může probíhat indoorovým, tedy vnitřním, nebo outdoorovým neboli venkovním způsobem. Z historie je patrné, že outdoorové pěstování bylo využíváno dříve než indoorové, nicméně indoorové pěstování přináší více výhod z hlediska kontroly podmínek pěstování a výše výnosu. Outdoorové pěstování je naopak méně náročné na čas i vstupní investice (Dupal 2010). Pro efektivní pěstování konopí je zapotřebí zajistit několik faktorů, a sice kvalitu a dostatečné množství světla, fotoperiodu, teplotu, cirkulaci vzduchu, relativní vlhkost a hladinu oxidu uhličitého v prostředí (Chandra et al. 2020).

#### 3.2.5.1 Indoorové pěstování

V současnosti se ve většině moderních systémů zabývajících se pěstováním konopí využívá množení v řízených systémech, a to ve sklenících viz Obrázek 7, nebo růstových

komorách. Cyklus začíná od semene nebo řízku, který se následně vyvíjí v kontrolovaných podmínkách, jako jsou světelné časové plány, díky kterým se uzpůsobuje počátek a konec vegetativní fáze a kvetení. V celém procesu indoorového pěstování je přikládán důraz na maximální kontrolu veškerých faktorů ovlivňujících konečnou kvalitu rostliny. Zejména se jedná o enviromentální faktory zahrnující parametry pěstování, zahradnických metod, sklizně a následného zpracování v kombinaci s genetikou (Dan et al. 2019). Pro udržení konzistentní kvality konopí a produktů z něj byly zřízeny systémy, které mají za úkol kvalitu konopí kontrolovat. Například v Nizozemsku funguje systém pro standardizaci pěstování, sklizně, zpracování a dalších faktorů, které přímo ovlivňují kvalitu konečného produktu. V Americe byl prostřednictvím The American Herbal Pharmacopoeia vydán standard pro identifikaci, analýzu a kontrolu kvality konopí (Dan et al. 2019).

Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující efektivní indoorové pěstování konopí patří světlo. Rostliny ze světla čerpají energii pro fotosyntetické reakce, při kterých asimilují oxid uhličitý a vodu do sušiny, proto je důležité zajistit vhodné spektrum a intenzitu světla (Dan et al. 2019). Rostliny prosperují ve viditelném spektru v rozmezí 400 nanometrů až 700 nanometrů, jež je označováno za fotosynteticky aktivní záření (Zheng & Llewellyn 2022; Llewellyn et al. 2022). Malý poměr mezi červeným a vzdáleným červeným světlem napomáhá k prodlužování stonku, naopak působení světla z modré části spektra způsobuje zkracování internody. Ultrafialové světlo B (UVB) může způsobit poškození DNA, zatímco ultrafialové světlo a (UVA) toto poškození dokáže zvrátit. Pro indoorové pěstování se jako zdroj světla obvykle používají halogenidové, fluorescenční a vysokotlaké sodíkové lampy. Emitované spektrum se u každého typu lamp odlišuje stejně jako jejich schopnost modifikovat vyzářenou elektrickou energii na fotosynteticky aktivní záření, jež rostliny potřebují. V současnosti jsou dostupné i LED lampy s možností úpravy a optimalizace emitovaného spektra podle potřeby rostliny. Vzhledem k rozdílům mezi typy lamp je pro ideální světelné podmínky možné použít kombinaci několika druhů lamp (Dan et al. 2019).

Primárním cílem indoorového pěstování konopí je produkce sekundárních metabolitů, a to zejména kanabinoidů a terpenů nacházejících se především ve květech neoplodněných samičích rostlin (Small 2016; Livingston et al. 2019; Llewellyn et al. 2022). Sekundární metabolismus mohou v nynějších kultivarech drogového konopí představovat 25 % i více celkové biomasy zralého kvetenství, což následně zásadně ovlivňuje atraktivitu produktu na trhu (Jikomes & Zoorob 2018; Cash et al. 2020; Llewellyn et al. 2022).



Obrázek 7 - indoorové pěstování konopí ve skleníku (Chandra et al. 2020)

### 3.2.5.2 Outdoorové pěstování

Outdoorové pěstování je původní a tradiční metodou pěstování konopí (Zheng et al. 2021), které je zahájeno na jaře, obvykle na konci března, případně začátkem dubna, kdy se podnebí začíná oteplovat. K zahájení sklizně dochází v závislosti na kultivaru, nicméně obvykle se tak děje na podzim, koncem listopadu až začátkem prosince (Chandra et al. 2017). V outdoorových podmínkách lze konopí pěstovat výsadbou semen do biologicky rozložitelných květináčů a následné vysazení vzniklých sazenic do země, výsadbou semen přímo do země, nebo výsadbou zakořeněných řízků (Chandra et al. 2020).

Samčí jedinci se do fáze kvetení dostávají do dvou až tří měsíců od vysazení, samičí rostliny začínají kvést bezprostředně po nich (Chandra et al. 2017). V případě pěstování konopí ze semen je nevýhodou, že polovinu vegetace budou představovat samčí jedinci. Vzhledem k tomu, že samčí jedinci by následně mohli svým pylom oplodnit samičí květenství, jsou z populace odstraněni, což ale způsobí poloprázdné pole. Taková situace není žádoucí, a proto se pro produkci biomasy a stabilní hladinu a profil kanabinoidů častěji volí zakořeněné řízky velmi výnosných a prosévaných samičích rostlin (Chandra et al. 2020).

Zralost rostliny a jejího květenství se stanovuje zejména vizuálním hodnocením následně podloženým adekvátním obsahem kanabinoidů ze vzorků odebraných v průběhu růstu rostlin (Chandra et al. 2017).



Obrázek 8 - outdoorové pěstování konopí na poli (Chandra et al. 2020)

### 3.2.5.3 Současné trendy v pěstování konopí

Rostlina konopí má vysokou variabilitu podmínek růstu, což přímo vede k vysoké variabilitě obsahu sekundárních metabolitů. Využití rostliny konopí tato skutečnost omezuje například při lékařském využití. V součastnosti lze za řešení tohoto problému považovat několik postupů, jako je například asexuální množení konopí. Pro asexuální množení konopí je zapotřebí pouze jedné rostliny, nikoli dvou jedinců, což umožňuje reprodukci pouze jednoho genotypu s vhodnými vlastnostmi pro dané využití. Dále je věnována pozornost pěstování pro produkci biomasy a obsahu biologicky aktivních látek pro vyrovnání vysokých vstupních investic při kontrolovaném pěstování konopí ve sklenících. Další možnou strategií je zdokonalit a lépe kontrolovat sekundární metabolismus rostlin při venkovním pěstování pomocí vybraných hnojiv nové generace nebo monitorování mikrobiotního stavu půdy. V neposlední řadě se diskutuje také suplementace agronomické techniky s molekulárními přístupy, případně jejich spojení. Konkrétně se jedná o genomovou sekvenaci a upravení rostliny konopí pro syntézu specifických sloučenin vhodných pro dané využití (Siracusa et al. 2023).

### 3.2.6 Sklizeň a zpracování

Optimální doba sklizně konopí je stanovena v okamžiku, kdy je množství a profil kanabinoidů vyhovující a rostlina je dle vizuální kontroly zralá. Hladina a profil kanabinoidů jsou stanovovány pomocí plynové chromatografie ze vzorků získaných v průběhu vývoje rostlin v různých oblastech pěstební plochy (Chandra et al. 2017). Zralé rostliny se sklízí dvěma způsoby, a to buď celé rostliny najednou, nebo postupně (Chandra et al. 2020). Vzhledem k tomu, že vrchní část rostliny uzrává dříve než spodní část, obvykle se volí druhá možnost. Nejprve se tedy sklízí svrchní zralé květy a spodní se ponechávají k dozrání (Chandra et al. 2017), což maximalizuje sklizeň (Chandra et al. 2020).

Po dokončení sklizně se odstraní postranní větve od hlavního stonku a zbaví se suchých a odumřelých listů. Takto připravené větve se nasekají na malé kousky a zahájí se sušení. Materiál lze sušit více způsoby podle objemu sklizně. Menší objemy je možné sušit zavěšením celých rostlin nebo větví v dobře odvětrané místnosti. Pro větší objemy je vhodné použít velkoobjemové průmyslové sušičky. Teplota a podmínky skladování usušené biomasy se různí v závislosti na plánované době skladování. Při krátkodobém skladování je ideální teplota 18-20 °C, zatímco při dlouhodobém skladování je vhodné udržovat biomasu při teplotě  $\leq 10$  °C a v temnu pro zamezení oxidace materiálu (Chandra et al. 2020).

### **3.3 Legislativa konopí**

#### **3.3.1 Metody rozdělení konopí pro legislativní účely**

Legislativní ustanovení je založeno na přesně určených rozdílech mezi oběma poddruhy konopí, díky kterým lze následně vymáhat právo v různých odvětvích, jako je průmysl, potravinářství nebo farmacie. Instituce v Evropě, Americe a dalších členských zemích OSN využívají pro rozlišování metodu založenou na základě určení množství kanabinoidů v rostlině. Tato klasifikační metoda konopí byla poprvé použita Smallem a Cronquistem, přičemž koncentrace 0,3 %  $\Delta^9$ -THC v sušině je po chemické stránce považována za rozhraní mezi konopím a marihuanou. V případě, že rostlina obsahuje méně než 0,3 %  $\Delta^9$ -THC v sušině je klasifikována jako konopí neboli tzv. vlákninový typ. V případě koncentrace v sušině vyšší nebo rovné 0,3 % je rostlina řazena mezi marihuanu, jinak řečeno drogový typ (Simiyu et al. 2022).

Dalším možným způsobem rozlišení konopí a marihuany je určení obsahu monoterpenoidů a seskviterpenoidů. V případě rozlišení odrůd drogového typu jsou ukazateli odchylky v genech terpenové syntázy. Grassi a McPartland ve své studii zjistili, že zemité aroma u některých odrůd má silnou souvislost s obsahem monoterpenu  $\beta$ -myrcenu, zatímco bylinné nebo sladké aroma některých odrůd koreluje s obsahem seskviterpenů bergamotenu a farnesenu. Dále bylo zjištěno, že poměr  $\Delta^9$ -THC a CBD je řízen geneticky a byl tak navržen nový model klasifikace konopí dle kvality kanabinoidů, nikoliv dle kvantity. Koncept klasifikace konopí založený na kvalitě kanabinoidů se zdá být spolehlivější, protože množství kanabinoidů je proměnlivé z důvodu náchylnosti rosliny na různé faktory, jako například prostředí nebo stáří rostliny. Na základě kvality kanabinoidů rozdělili Hillig a Mahlberg konopí do tří chemotypů – typ I, typ II a typ III. Rozřazení do jednotlivých chemotypů se provádí na základě výpočtu podle vzorce  $\log_{10}(\Delta^9\text{-THC \%}/\text{CBD \%})$ , tedy dekadického logaritmu poměru procentuálního zastoupení  $\Delta^9$ -THC a CBD. Rostliny s výsledkem  $>1,0$  spadají do chemotypu I, rostliny s hodnotami  $< 0,7$  do chemotypu II a rostliny s hodnotami mezi -0,7 a 1,0 jsou řazeny do chemotypu III. Postupně byly navrženy další dva chemotypy, konkrétně typ IV s převahou kanabinoidu kanabigerolu a typ V, ve kterém nejsou přesně definované kanabinoidy (Simiyu et al. 2022).

Skutečnosti, na základě, kterých je konopí klasifikováno, se u některých poddruhů prolínají. Důkazem je například korejský kultivar konopí Cheungsam, který se svým množstvím kanabinoidů lze zařadit do drogového typu, protože obsahuje více než 0,3 %  $\Delta^9$ -THC. Z toho vyplývá, že při klasifikaci konopí není vhodné považovat výsledky pouze jedné metody za směrodatné, průkaznější je vždy aplikování několika metod. Porovnáním výsledků více metod je možné lépe charakterizovat rostlinu z genetické, chemické a fyzikální stránky, což usnadní její identifikaci (Simiyu et al. 2022).

#### **3.3.2 Současná legislativa konopí v Čr**

Česká republika je postkomunistickým státem, kde bylo za dob komunismu držení jakékoli drogy považováno za trestný čin a bylo klasifikováno podle stejného ustanovení jako nelegální výroba, dovoz, vývoz a distribuce drog. Po sametové revoluci v roce 1989 došlo k širším změnám v trestním právu. V rozmezí let 1990 až 1998 proběhla úplná dekriminalizace

držení drog. Konkrétně v červenci roku 1990 bylo držení nelegálních drog pro osobní potřebu odstraněno z trestního zákoníku a považováno pouze za správní delikt. Tato změna v potrestání za osobní držení drog poměrně dobře zapadala do toho, jak byla dekriminalizace formulována, avšak držení drog zůstalo pro jinou osobu dále trestným činem (Belackova & Stefunkova 2018).

Následkem úplné dekriminalizace však došlo k prudkému rozvoji drog mezi širší společností, což zapříčinilo politický tlak na zrušení nebo alespoň úpravu stávajících zákonů týkajících se drog. Jako kompromisní řešení bylo uzákoněno dekriminalozování osobního držení drog v tzv. „malém množství“, které platilo v letech 1999 až 2009. Za trestný čin bylo tedy považováno držení tzv. „většího než malého množství“. Držení „malého množství“ bylo v rámci vlastní potřeby dekriminalizováno, avšak to, co bylo považováno za „malé množství“ se u různých drog odlišovalo (Belackova & Stefunkova 2018).

V roce 2010 došlo ke změně trestního zákoníku, která se v trestních činech spojených s drogami projevila malými změnami. Změny vycházely z doporučení vědeckého hodnocení změny z roku 1999 a jejich cílem bylo diferencovat mezi existujícími druhy drog a nehodnotit je všechny stejný způsobem. Konkrétně se z trestního hlediska jednalo o mírnější hodnocení držení konopí „ve větším než malém množství“, nicméně za držení konopí „ve větším než malém množství“ spáchaný za přítěžujících okolností byla maximální možná sazba navýšena. Dále došlo ke kodifikaci osobního pěstování tzv. rostlinných drog, přičemž držení „většího než malého množství“ bylo kvalifikováno jako trestní čin, držení „malého množství“ za správní delikt. Před kodifikací bylo na osobní pěstování konopí nahlíženo jako na držení pro osobní potřebu, někdy však jako na snahu drogy vyrábět. Pro upřesnění definice „malého množství pro vlastní potřebu“ byly přijaty dvě vládní vyhlášky. První z nich specifikuje osobní držení konopí, druhá pěstování konopí, přičemž mezní množství drženého konopí bylo oproti minulosti u většiny drog navýšeno. V roce 2013 však došlo ke zrušení vyhlášky týkající se držení konopí Ústavním soudem, údajně z důvodu nekompetentnosti vlády určovat trestní odpovědnost. Vyhláška zabývající se pěstováním rostlinných drog zůstává platná (Belackova & Stefunkova 2018).

Léčebné konopí je tedy od roku 2013 v České republice legální, nicméně změna zákona umožňující domácí produkci byla provedena až v roce 2015. Produkce v domácích podmínkách může být pěstitelem zahájena pouze po udělení licence Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SUKL), přičemž vypěstovaná biomasa musí být prodávána výhradně tentýž organizaci (Hutt 2021).

V roce 2019 byla provedena změna zákona umožňující hradit až 90 % předepsaného lékařského konopí zdravotními pojišťovnami, což v následujícím roce způsobilo razantně zvýšenou poptávku po této bylině (Hutt 2021).

## 3.4 Biologicky aktivní látky v konopí

V konopí byl potvrzen obsah více jak 1400 látek, z nichž 144 je řazeno mezi kanabinoidy. Mezi hlavní farmakologicky aktivní látky v konopí patří fytokanabinoidy  $\Delta^9$ -THC ( $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol) vyznačující se psychoaktivními účinky a nepsychoaktivně působící CBD (kanabidiol) (Kopustinskiene et al. 2022). Fytokonabinoidy obecně jsou syntetizovány v konopí pomocí glandulárních trichomů (Ryle 2024) (Obrázek 9) v podobě karboxylové kyseliny z geranyl pyrofosfátu andolivetolových prekurzorů za vzniku mateřské fytokannabinoidní sloučeniny, kyseliny kanabigerolové (CBGA) (Russo 2007).



Obrázek 9 - glandulární trichomy (Ryle 2024)

$\Delta^9$ -THC i CBD jsou již velmi dlouho předmětem intenzivního výzkumu (Ng et al. 2023). Doposud byly zaznamenány antioxidační a zánětlivé účinky, nicméně detailní mechanismus účinků těchto látek nebyl zatím popsán. Dosavadní výzkumy naznačují, že analgetické účinky  $\Delta^9$ -THC souvisí s receptory CB1, zatímco imonomodulační vlastnosti se připisují funkci CB2 receptoru. CBD má na rozdíl od  $\Delta^9$ -THC značně nižší afinitu k CB1 i CB2 receptoru a působí jako jejich negativní alosterický modulátor, což se projevuje jako inhibice jejich funkce (Kopustinskiene et al. 2022).

### 3.4.1 Kanabinoidy

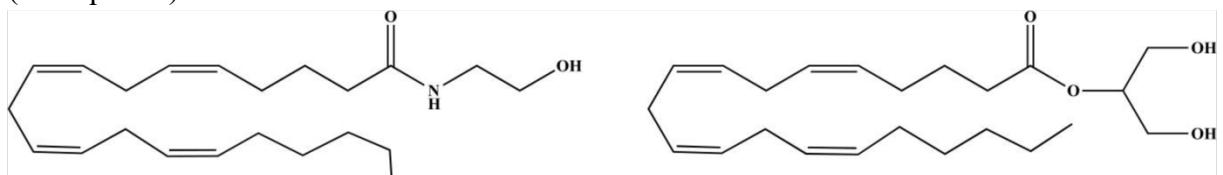
Kanabinoidy se z chemického hlediska řadí mezi arylem substituované meroterpeny (Kopustinskiene et al. 2022). Podle jejich původu a výskytu je lze dělit do tří kategorií – endokanabinoidy, fytokanabinoidy (exokanabinoidy) a syntetické kanabinoidy (Bilici 2014).

#### 3.4.1.1 Endokanabinoidy a endokanabinoidní systém (ECS)

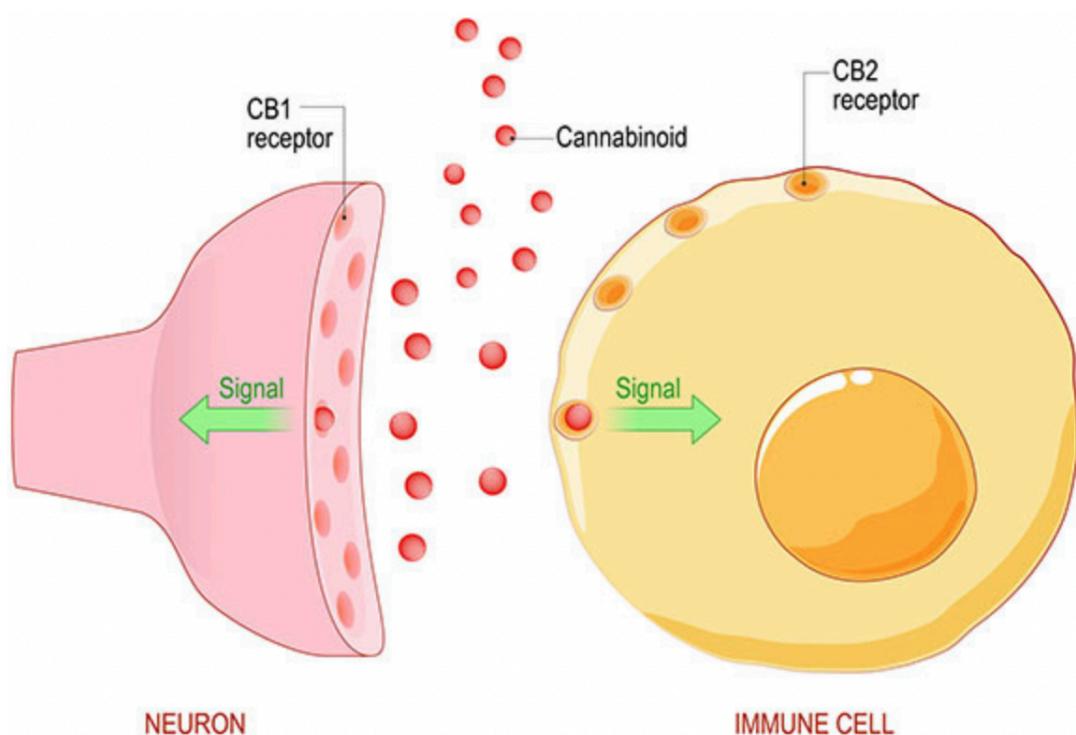
Endokanabinoidní systém (ECS) je v současnosti chápán jako soustava zahrnující několik endokanabinoidů, především arachidonylethanolamid (AEA) a 2-arachidonoylglycerol (2-AG) viz Obrázek 10 a dva základní kanabinoidní receptory CB1 a CB2 (Crocq 2020).

Endokanabinoidy neboli endogenní kanabinoidy jsou molekuly produkované lidským nebo zvířecím organismem, jejich struktura je však obdobná jako struktura molekul v konopí. Tento typ kanabinoidů slouží ke stimulaci receptorů ECS, a to zejména CB1 receptorů (Grindspoon 2021). CB1 receptory se nachází primárně v centrálním nervovém systému a v orgánech trávicího traktu (Crocq 2020). CB1 receptory regulují hladinu a aktivitu většiny ostatních neurotransmiterů, čímž ovládají činnost různých systémů, jako například tělesné teploty, pocitu sytosti nebo únavy (Grindspoon 2021). Endokanabinoidy ovlivňují i CB2 receptory situované v imunitních tkáních, které mají zásadní funkci v imunitní reakci organismu a regulují zánětlivá ložiska. Schéma fungování endokanabinoidů je znázorněno na Obrázku 11 (Grindspoon 2021; Crocq 2020).

Funkce ECS je založena na principu retrográdní signalizace, vysílaná informace v podobě AEA a 2-AG tedy putuje z postsynaptických neuronů do synaptického prostoru a dále do presynaptických terminálů. V presynaptických terminálech dochází k interakci AEA a 2-AG s CB1 receptory, což se projevuje sníženým uvolňováním neurotransmiterů presynaptickým neuronem. V posledních letech se informace o ECS značně prohloubily. ECS je komplexní mozkový signalizační systém významně ovlivňující kognitivní funkce a psychotické poruchy (Crocq 2020).



Obrázek 10 - strukturní vzorec AEA (25); 2-AG (26) (Franco et al. 2021)



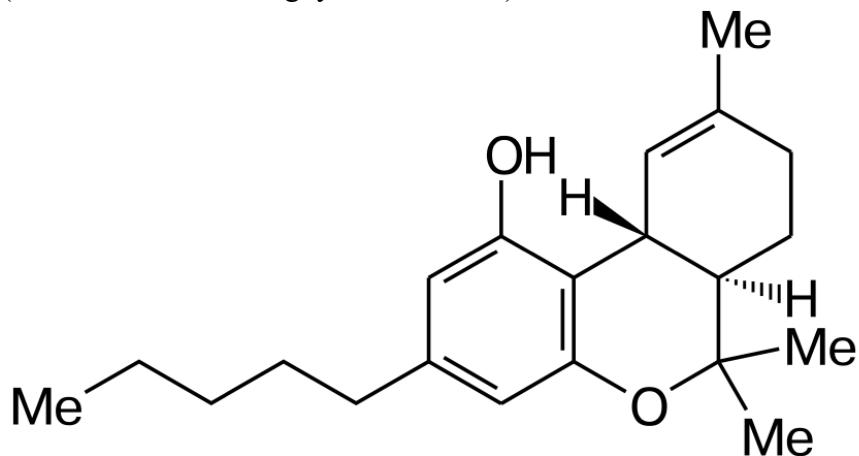
Obrázek 11 - schéma fungování endokanabinoidů (Grindspoon 2021)

### 3.4.1.2 Fytokanabinoidy

Fytokanabinoidy jsou z chemického hlediska terpenofenolické složky C<sub>21</sub> a představují zhruba 24 % celkových přírodních produktů konopí. Dodnes bylo objeveno 120 fytokanabinoidů, které jsou řazeny do jedenácti tříd dle chemické charakteristiky. Nejvíce zastoupeným typem je typová třída Δ<sup>9</sup>-THC (Δ<sup>9</sup>-tetrahydrokanabinol) s 17,3 % z celkového množství fytokanabinoidů. Druhým nejzastoupenějším typem je typová třída CBG (kanabigerol) s 16,3 % následovaná typovou třídou CBN (kanabinol) s 9,6 % (Turner et al. 2017).

### 3.4.1.2.1 $\Delta^9$ -THC ( $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol)

$\Delta^9$  – THC ( $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol) je hlavní složkou konopí (Capasso et al. 2016).  $\Delta^9$  – THC je termodynamicky nestabilní a za přítomnosti kyselin prochází izomerizací a mění se v  $\Delta^8$  – THC (Franco et al. 2021). V lidském organismu je  $\Delta^9$  – THC okamžitě vstřebáván a distribuován v těle, kde je dále metabolizován cytochromem P450 (Klumpers & Thacker 2019). Z důvodu jeho lypofilní povahy se vědci dříve domnívali, že jeho farmakologické vlastnosti jsou důsledkem interakcí s fosfolipidovými membránami, nicméně dnes už je známo, že psychoaktivita  $\Delta^9$  – THC je zapříčiněna jeho navázáním na kanabinoидní receptory, konkrétně na receptor CB1 (Franco et al. 2021). Nedávné studie naznačují neuroprotektivní účinky  $\Delta^9$  – THC, schopnost zvyšovat životaschopnost buněk a inhibovat oxidační stres (Carroll et al. 2012; Nguyen et al. 2016).

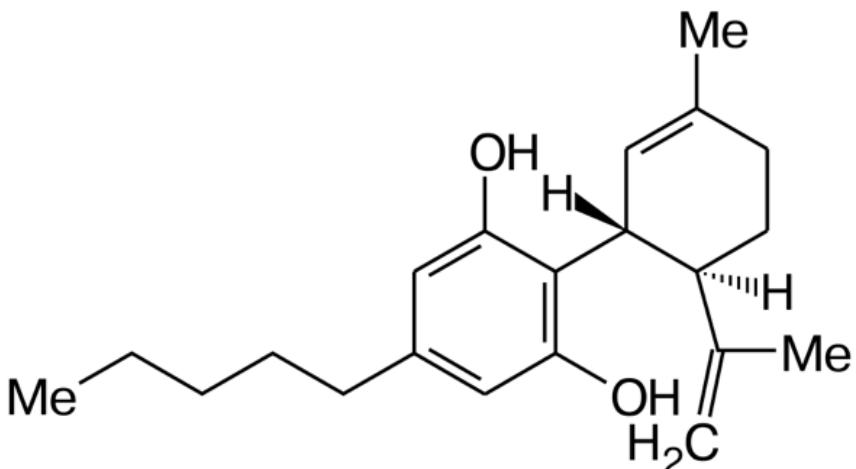


Obrázek 12 - strukturní vzorec Δ9 – THC (Shevyrin & Morzherin 2016)

#### 3.4.1.2.2 CBD (kanabidiol)

CBD (kanabidiol) je druhým nejvíce se vyskytujícím fytokanabinoidem v konopí (Pisanti et al. 2017). CBD nevykazuje psychoaktivní aktivitu a vůči kanabinoidním rezeptorům CB1 i CB2 má nízkou afinitu (Franco et al. 2021). Vzhledem k tomu, že je CBD alosterickým modulátorem, má schopnost potlačovat psychotropní účinky a utlumovat úzkostné účinky způsobené vysokými dávkami  $\Delta^9$  – THC (Scherma et al. 2018). Několik studií zdokumentovalo neuroprotektivní schopnost CBD v in vitro pokusech na zvířatech s Alzheimerovou chorobou (Cheng et al. 2014; Janefjord et al. 2014; Watt & Karl 2017). Dále CBD vykazuje antioxidační

a protizánětlivé vlastnosti, jež dávají prostor pro další výzkum v oblasti medicíny, a to zejména pro léčbu onemocnění souvisejících s CNS (Franco et al. 2021).



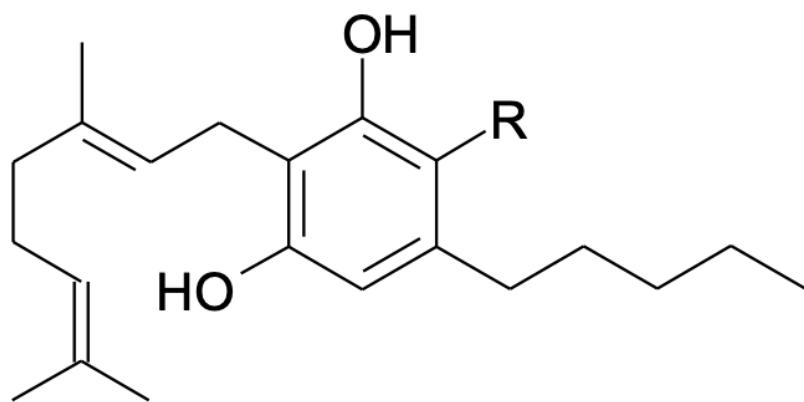
Obrázek 13 - strukturní vzorec CBD (Shevyrin & Morzherin 2016)

#### 3.4.1.2.3 CBG (kanabigerol)

CBG (kanabigerol) je sloučenina řadící se společně s CBC (kanabichromen) mezi tzv. sekundární kanabinoidy (Graczyk et al. 2023), přičemž kanabigerol byl izolován z konopné pryskyřice jako jeden z prvních (ElSohly & Slade 2005). Během biosyntézy funguje CBG jako prekurzor několika fytokanabinoidů, včetně CBD a  $\Delta^9$  – THC (Graczyk et al. 2023).

Kanabigerol a jemu podobné látky nejsou ve srovnání s  $\Delta^9$  – THC psychoaktivní, nicméně charakterizují se značnou antibakteriální aktivitou, a to zejména vůči grampozitivním bakteriím (ElSohly & Slade 2005). Vyznačuje se také protizánětlivými, antimykotickými a neuromodulačními vlastnostmi a zároveň jako regulátor redoxní rovnováhy. CBG nachází v posledních letech využití i v medicíně a farmaci díky jeho pozitivním účinkům na zdraví. Kanabigerol není zatím detailně prozkoumán, a proto je potřeba zvážit úroveň nebezpečí interakce s jinými léčivy (Graczyk et al. 2023).

Kanabigerol má stejně jako CBD, CBC i  $\Delta^9$  – THC pentylový postranní řetězec, jeho strukturní vzorec je znázorněn na Obrázku 14. Aktuálně je registrováno sedm sloučenin typu CBG, a to kanabigerolová kyselina A, monomethyl ether kanabigerolové kyseliny A, kanabigerol, monomethyl ether kanabigerolu, kanabigerovarinová kyselina A, kanabigerovarin, kanabinerolová kyselina (ElSohly & Slade 2005)

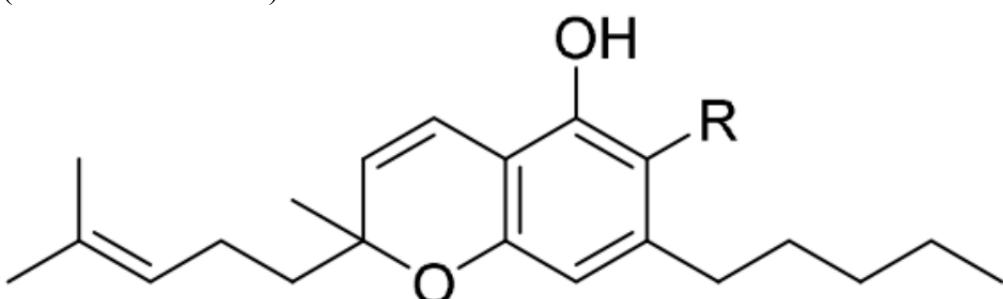


Obrázek 14 - strukturní vzorec CBG (R=H: CBG) (Pollastro et al. 2018)

#### 3.4.1.2.4 CBC (kanabichromen)

CBC (kanabichromen) byl poprvé izolován z *Cannabis sativa* L. v roce 1966. V následujících letech nebyly jeho vlastnosti a chemická reaktivita v porovnání s jinými fytokanabinoidy příliš zkoumány. Dříve byl řazen k nejvíce se vyskytujícím kanabinoidům v rekreační marihuaně, později se však ukázalo, že jeho obsah v konopí byl chyběně chápán kvůli problematickému oddělení CBC a CBD v těchto letech (Pollastro et al. 2018).

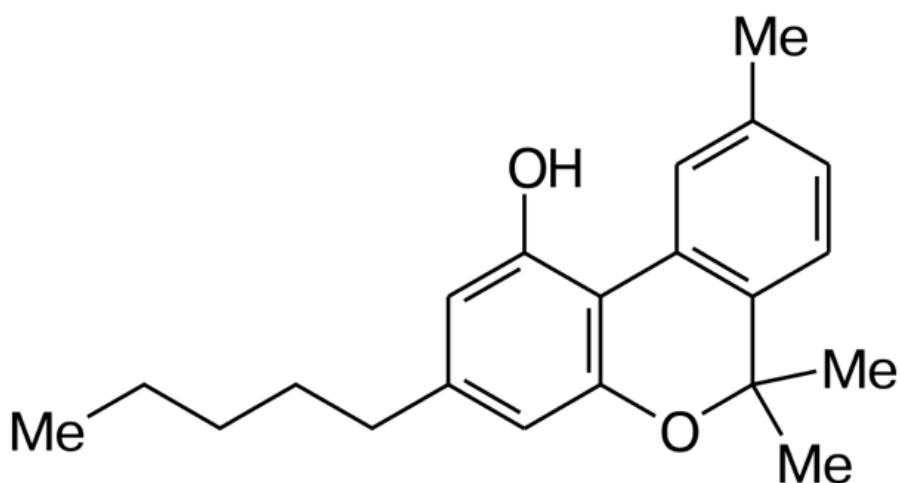
V posledních letech přibývá důkazů, že kanabinoidy obecně mohou být prospěšné při léčbě různých zánětlivých onemocnění. Potenciál kanabichromenu zkoumala studie Khodadadi H. et al. při léčbě ARDS (syndrom akutní respirační tísni) na myších. Výsledky ukázaly schopnost kanabichromenu zvrátit hypoxii, redukovat nejhorší příznaky ARDS (úbytek prozánětlivých cytokinů v plicích a krvi o 50 %) a zabránit dalšímu poškození plicní tkáně (Khodadadi et al. 2021). Strukturní vzorec kanabichromenu je znázorněn na Obrázku 15 (Pollastro et al. 2018).



Obrázek 15 - strukturní vzorec CBC (R=H: CBC) (Pollastro et al. 2018)

#### 3.4.1.2.5 CBN (kanabinol)

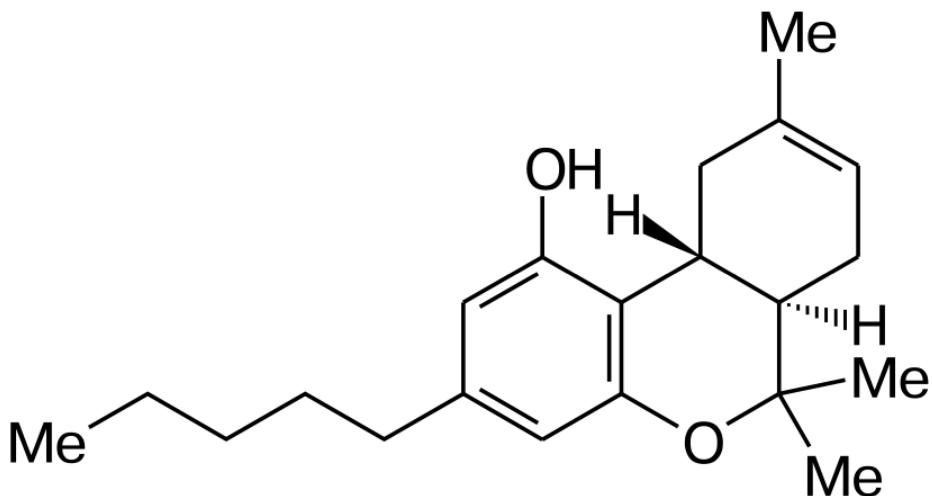
CBN (kanabinol) je fytokanabinoid nacházející se ve své kyselé formě v *Cannabis sativa* L. a *Cannabis indica*. Je oxidačním produktem  $\Delta^9$  – THC a při působení tepla dochází k jeho dekarboxylaci (Kinghorn et al. 2017). Jeho obsah v rostlině konopí se se snižujícím se obsahem  $\Delta^9$  – THC během skladování zvyšuje (Capasso et al. 2016). CBN se chová částečně antagonisticky vůči CB1 receptoru a výrazně afinitně k CB2 receptoru (Maurya & Velmurugan 2018).



Obrázek 16 - strukturní vzorec CBN (Me = methyl) (Shevyrin & Morzherin 2016)

### 3.4.1.2.6 $\Delta^8$ – THC ( $\Delta^8$ -tetrahydrokanabinol)

$\Delta^8$  – THC ( $\Delta^8$ -tetrahydrokanabinol) se nachází pouze u několika kultivarů konopí a je regioizomerem  $\Delta^9$  – THC.  $\Delta^8$  – THC je afinitní k obou endokanabinoidním receptorům (CB1, CB2) obdobným způsobem jaký je sledován u  $\Delta^9$  – THC (Franco et al. 2021). Některé studie naznačují, že  $\Delta^8$  – THC by mohl zabráňovat oxytóze (Schubert et al. 2019).



Obrázek 17 - strukturní vzorec  $\Delta^8$  – THC (Me = methyl) (Shevyrin & Morzherin 2016)

### 3.4.1.3 Syntetické kanabinoidy

Syntetické kanabinoidy jsou heterogenní sloučeniny vyrobené v laboratořích během 90. let minulého století. Původně byly určeny pro výzkum endogenních kanabinoidů s účelem získat nové alternativy proužitelné v medicíně. Po syntéze v laboratoři se syntetické kanabinoidy rozpustí v rozpouštědle a následně nanesou na rostliny v podobě mlhy. Poté se rozpouštědlo nechá odparit, rostliny se usuší, listy se vylisují a zabalí (Bilici 2014).

## 3.4.2 Terpeny a terpenoidy

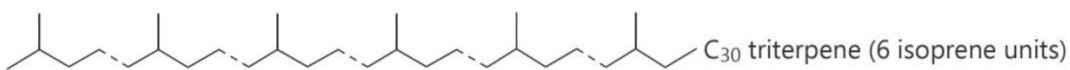
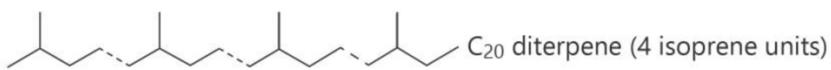
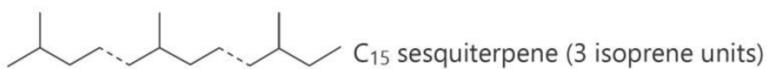
Terpeny a terpenoidy jsou skupiny látek zapříčinující charakteristické aroma rostlin konopí (Pellati et al. 2018; Hanuš & Hod 2020). Pojmenování této skupiny názvem „terpeny“ navrhl v roce 1866 Friedrich August Kukelé. Terpeny jsou charakterizovány jako sloučeniny tvořené jednoduchými uhlíkovými strukturami. Terpenoidy lze definovat jako modifikované sloučeniny terpenů s různými funkčními skupinami, především pak s oxidovanými methylovými skupinami. Pro zjednodušení lze říct, že terpenoidy jsou uhlovodíky nesoucí ve své struktuře kyslík (Masyita et al. 2022). Terpeny a terpenoidy jsou klasifikovány na základě tzv. isoprenového pravidla neboli pravidla C5, které určuje typ terpenu/terpenoidu podle počtu a uspořádání atomů uhlíku v molekule, jež se seskupují dle počtu isoprenových jednotek (Mosquera et al. 2021). Terpeny i terpenoidy jsou tvořeny několika isoprenovými jednotkami spojenými do řetězců, přičemž jejich počet v řetězci se odvíjí od typu terpenu/terpenoidu, viz Obrázek 18 (Hanuš & Hod 2020).

Terpenů bylo doposud potvrzeno 120 (Radwan et al. 2021), terpenoidů 121 (Hanuš & Hod 2020), přičemž obě skupiny jsou dále děleny do dalších několika skupin. Terpeny dělíme na monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny a smíšené terpeny. Ze zmíněných 120 potvrzených terpenů je 61 monoterpenů, 51 sesquiterpenů, 2 diterpeny, 2 triterpeny a 4 smíšené

terpeny (Radwan et al. 2021). Terpenoidy dělíme na monoterpenoidy, seskviterpenoidy, diterpenoidy a triterpenoidy (Hanuš & Hod 2020).

Terpeny a terpenoidy většinově disponují značnou biologickou a farmakologickou aktivitou. Pozitivních vlastností těchto sloučenin je celá řada, a to hned v několika oblastech působení. Vykazují antibakteriální (Francomano et al. 2019), antihyperglykemické (Habtemariam 2018; Brahmkshatriya & Brahmkshatriya 2013) protizánětlivé, protinádorové, antiparazitní, antivirové, antimykotické, antioxidační, imunomodulační (Brahmkshatriya & Brahmkshatriya 2013), antimikrobiální a další vlastnosti (Hanuš & Hod 2020; Álvarez-Martínez et al. 2021).

Bylo prokázáno, že určité druhy biologického působení kanabinoidů jsou podpořeny v případě přítomnosti některých terpenů. Synergické působení kanabinoidů a terpenů bylo pozorováno například v případech úzkosti nebo spánkových poruch (Russo 2011). Terpeny totiž mají schopnost zvýšit permeabilitu hematoencefalitické bariéry a dovedou interagovat s neurotransmitními receptory, čímž posilují psychotické a analgetické účinky způsobené kanabinoidy (Andre et al. 2016).



Obrázek 18 - typy terpenů a počet jejich izoprenových jednotek (Hanuš & Hod 2020)

### 3.4.2.1 Monoterpeny

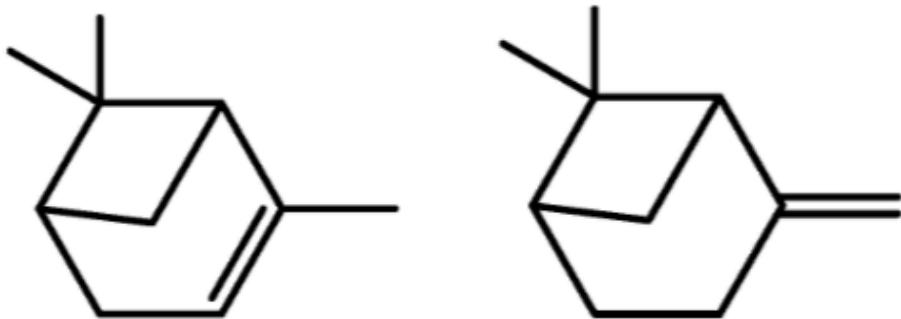
Monoterpeny mohou mít monocyklickou, bicyklickou nebo acyklickou strukturu (Radwan et al. 2021). Jsou charakteristické dvěma izoprenovými jednotkami (Sommano et al. 2020).

#### $\alpha$ -Pinen, $\beta$ -Pinen

$\alpha$ -Pinen je monoterpen vykazující bronchodilatační, protizánětlivé, antibakteriální a gastroprotektivní účinky (Hanuš & Hod 2020). Díky své typické borovicové vůni je také antiseptický. Společně s  $\beta$ -pinenem má schopnost inhibovat aktivitu acetylcholinesterázy, což napovídá tomu, že pravděpodobně kladně působí na paměť a minimalizuje kognitivní disfunkce způsobené intoxikací  $\Delta^9$ -THC (Sommano et al. 2020).

$\beta$ -Pinen vykazuje antiseptické vlastnosti (Hanuš & Hod 2020) a společně s  $\alpha$ -pinenem jsou zřejmě i neuroprotektivní. Ve studii Laws & Smid (2024) byly porovnávány

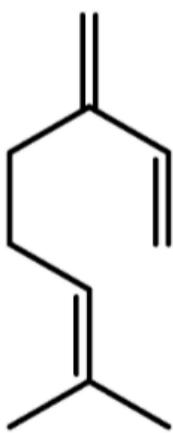
neuroprotektivní účinky několika terpenů, včetně  $\beta$ -pinenu a  $\alpha$ -pinenu proti neurotoxicckému proteinu amyloidu  $\beta$  (A $\beta$ ) a terc-butyl hydroperoxidu (t-BHP), který indukuje lipidové peroxidace a oxidační stres v polodiferencovaných potkaních feochromocytomových buňkách (PC12 buňky). PC12 buňky jsou nesmrtelná neuronální buněčná linie reagující na oxidační stres a A $\beta$ . Výsledky ukázaly signifikantní schopnost  $\alpha$  a  $\beta$ -pinenu chránit PC12 buňky proti neurotoxicitě vyvolané A $\beta$ .



Obrázek 19 - strukturní vzorec  $\alpha$ -pinenu (vlevo);  $\beta$ -pinenu (vpravo) (Radwan et al. 2021)

### $\beta$ -Myrcen

$\beta$ -Myrcen je nejrozšířenějším monoterpenem a nachází se ve velké většině známých kultivarů konopí (Hanuš & Hod 2020). Je známo, že kultivary s vysokým obsahem  $\beta$ -myrcenu, konkrétně  $>0,5\%$ , způsobují tzv. couch lock, naproti tomu kultivary s obsahem  $<0,5\%$   $\beta$ -myrcenu vyvolávají příval energie. Z těchto skutečností vyplývá, že  $\beta$ -myrcen významně ovlivňuje účinek konopí na organismus (Hanuš & Hod 2020; Sommano et al. 2020).  $\beta$ -Myrcen má chmelovou až pižmovou vůni, díky níž má antioxidační a antikarcinogenní vlastnosti (Gaggiotti et al. 2020). Dále  $\beta$ -myrcen vykazuje antipsychotické, sedativní, myorelaxační, analgetické, protizánětlivé (Hanuš & Hod 2020) a anxiolytické schopnosti (Pellati et al. 2018).

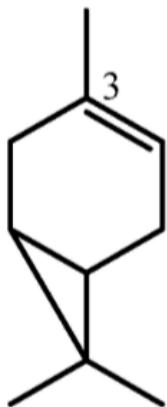


Obrázek 20 - strukturní vzorec  $\beta$ -myrcenu (Radwan et al. 2021)

### $\Delta^3$ -karen

$\Delta^3$ -karen je byciklický monoterpen (Mosquera et al. 2021) vyskytující se kromě konopí také v turpentýnu jehličnanů nebo v bílém pepři (Tomko et al. 2020).  $\Delta^3$ -karen má antibakteriální schopnosti (Masyita et al. 2022). Ve studii Shu et al. (2020) vykázal  $\Delta^3$ -karen významnou antibakteriální aktivitu (MIC 20 ml/L) proti *Pseudomonas fluorescens*.

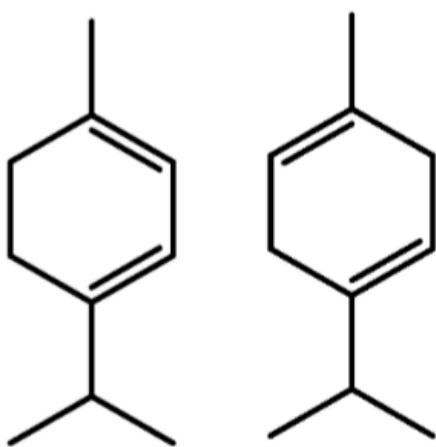
Dále existují náznaky, že by  $\Delta^3$ -karen mohl být nápomocný při léčbě rakoviny, protože je potvrzena významná cytotoxická aktivita esenciálních olejů (EO) z různých jehličnanů, které  $\Delta^3$ -karen obsahují. Výsledky provedených studií, avšak nemohou jednoznačně prokázat schopnost  $\Delta^3$ -karenu účinně bojovat proti rakovině, protože v použitych extraktech z EO bylo několik dalších látek (Tomko et al. 2020).



Obrázek 21 - strukturní vzorec  $\Delta^3$ -karenu (Radwan et al. 2021)

#### $\alpha$ -Terpinen, $\gamma$ -Terpinen

$\alpha$ -Terpinen je monoterpen vyskytující se v EO konopí, kardamomu nebo majoránky. Má dřevitou borovicovou vůni, může ale připomínat i aroma citrusů a máty. Vůně  $\gamma$ -terpinenu je citronovo-limetková, až dřevitá (Tomko et al. 2020).  $\gamma$ -Terpinen funguje jako analgetikum. Dále disponuje protinádorovými, protizánětlivými a antibakteriálními vlastnostmi (Hanuš & Hod 2020).

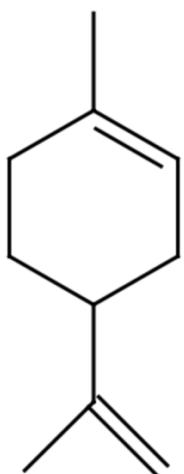


Obrázek 22 - strukturní vzorec  $\alpha$ -terpinenu (vlevo)  $\gamma$ -terpinenu (vpravo) (Radwan et al. 2021)

#### Limonen

Limonen je cyklický monoterpen s citrusovou vůní (Tomko et al. 2020). I přes předpoklad, že není nijak výrazně afinitní ke kanabinoidním receptorům, dokáže zvyšovat hladinu dopaminu a serotoninu, což zapříčinuje anxiolytické, antidepresivní a sedativní účinky CBD (Sommano et al. 2020). Dále je znám pro své gastroprotektivní, antiproliferativní, antimykotické, antimikrobiální, antispasmodické, imunostimulační a další účinky (Hanuš & Hod 2020). Antiproliferativní účinky limenonu se různými mechanismy projevovaly hned

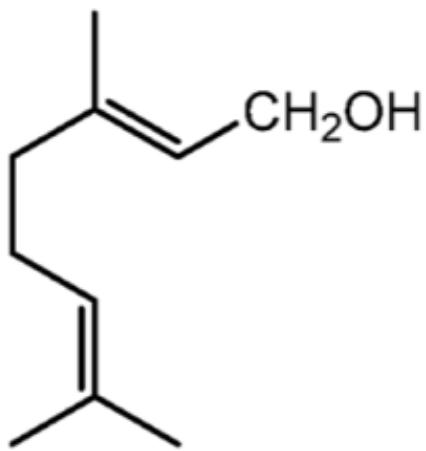
u několika typů nádorů, například u lidského karcinomu močového měchýře, karcinomu tlustého střeva, žaludku nebo karcinomu plic u myší (Tomko et al. 2020).



Obrázek 23 - strukturní vzorec limonenu (Hodova 2021)

### Geraniol

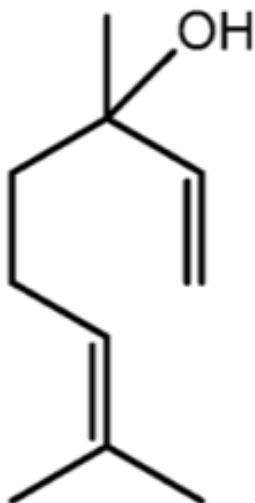
Geraniol je monoterpen přirozeně se vyskytující v broskvích, růžích, muškátech, citronové trávě, citronech nebo koriandru. Za povšimnutí stojí fakt, že konopné kultivary s vysokým obsahem linaloolu ve svém EO obvykle obsahují i vysoký obsah geraniolu. Geraniol je syntetizován vonnými žlázkami včel medonosných, kde má funkci pro označování květů obsahujících nektar a také slouží jako navigátor včel do jejich úlů. Geraniol vykazuje protinádorové vlastnosti hned u několika druhů rakoviny, jako například u rakoviny prostaty, tlustého střeva, prsu, kůže, pankreatu, plic, ústní dutiny, lednív a jater (Tomko et al. 2020).



Obrázek 24 - strukturní vzorec geraniolu (Radwan et al. 2021)

## Linalool

Linalool je typický svým lehce kořenitým květinovo-levandulovým aroma (Tomko et al. 2020), jež by mohlo být prospěšné při úzkostních stavech (Sommano et al. 2020). Běžně se nachází v EO koriandru a vavřínu vznešeném (bobkový list). U linalolu byly sledovány antiproliferační účinky na karcinom prsu, jater, tlustého střeva a děložního čípku (Tomko et al. 2020). Dále je to sedativní, antikonvulzivní, antipsychotický, anestetický, antiepileptický, antineoplastický, antidepresivní monoterpen (Hanuš & Hod 2020).



Obrázek 25 - strukturní vzorec linalolu (Radwan et al. 2021)

### 3.4.2.2 Seskviterpeny

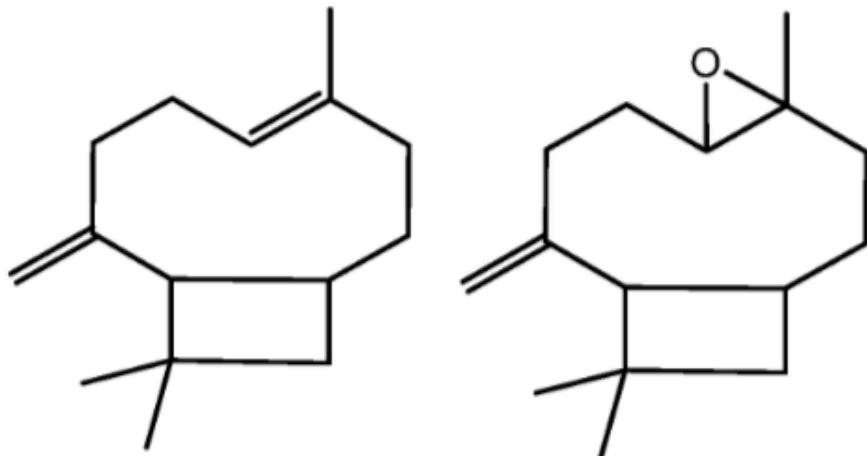
#### $\beta$ -Karyofylen, $\beta$ -Karyofylen oxid

$\beta$ -Karyofylen je nejdostupnějším seskviterpenem v konopí, a to zejména po dekarboxylaci (Sommano et al. 2020). Disponuje velmi kořenitou až pepřovou vůní (Tomko et al. 2020; Sommano et al. 2020) a je obsažen v EO oregana, černého pepře, bazalky, hřebíčku a rozmarýnu (Tomko et al. 2020).  $\beta$ -Karyofylen je doposud jediným známým seskviterpenem u kterého je potvrzena schopnost interagovat s ECS, konkrétně s CB2 receptorem.  $\beta$ -Karyofylen se chová protizánětlivě a vykazuje cytoprotekční aktivitu v žaludku (Pellati et al. 2018; Hanuš & Hod 2020). Dále má antivirové, analgetické, antikancerogenní, antibakteriální, antidepresivní, antiproliferativní, neuroprotektivní, antimykotické, protizánětlivé a další účinky (Hanuš & Hod 2020). Jeho antivirové vlastnosti jsou poměrně výrazné vůči herpes viru, kdy při pokusu Astani et al. (2011) inhiboval počet plaků o 50 % ve srovnání s neléčenou kontrolou.

$\beta$ -Karyofylen oxid vůní po citrusech (Sommano et al. 2020) a vyznačuje se analgetickými, antimykotickými, protinádorovými a protizánětlivými schopnostmi (Hanuš & Hod 2020). Vzhledem k tomu, že se běžně vyskytuje v konopí, je využíván pro jeho identifikaci pomocí policejních protidrogových psů (Russo 2011).  $\beta$ -Karyofylen oxid byl společně s  $\beta$ -karyofylenem testován na účinek proti lidským nádorovým onemocněním. Oba monoterpeny způsobovaly zvýšení cytotoxicity doxorubicinu (látky používaná při chemoterapiích), nicméně  $\beta$ -karyofylen oxid vykazoval o něco lepší výsledky než  $\beta$ -karyofylen (Tomko et al. 2020).

$\beta$ -Karyofylen však kromě oslabování nádorových buněk také mírní chronickou kardiotoxicitu způsobovanou doxorubicinem, a to pomocí aktivace myokardiálního CB2 receptoru u potkanů (Meeran et al. 2019).  $\beta$ -Karyofylen oxid i  $\beta$ -karyofylen mají tedy zřejmě

terapeutický potenciál ve zvyšení účinnosti chemoterapie za použití doxorubicinu, a zároveň jsou schopné, v případě  $\beta$ -karyofylenu, zmírnit některé vedlejší toxické účinky chemoterapie doxorubicinem (Tomko et al. 2020).

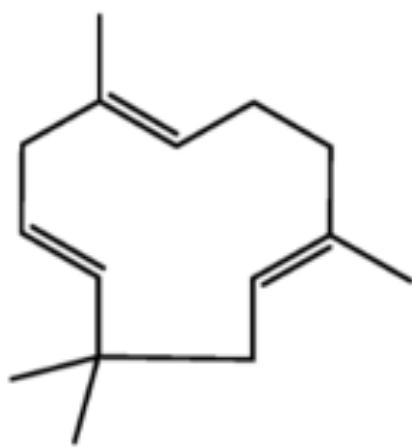


Obrázek 26 - strukturní vzorec  $\beta$ -aryofylenu (vlevo);  $\beta$ -karyofylen oxidu (vpravo) (Radwan et al. 2021)

#### $\alpha$ -Humulen

$\alpha$ -Humulen je povětšinou přítomen ve většině kultivarů konopí, nejčastěji u kmenů *sativa*.  $\alpha$ -Humulen byl poprvé objeven v EO chmelu, ve kterém je zodpovědný za typické chmelové aroma, stejně jako v konopí. Obecně disponuje bylinným a dřevito-zemitým aroma (Tomko et al. 2020).

$\alpha$ -Humulen disponuje protizánětlivými, protinádorovými a antibakteriálními vlastnostmi (Hanuš & Hod 2020). Jeho protinádorové vlastnosti byly prokázány hned v několika studiích. Ve studii Chen et al. (2019) se  $\alpha$ -humulen choval cytotoxicky vůči hepatocelulárnímu karcinomu. V jiné studii podporoval antiproliferační účinek 5-fluorouracilu a oxaliplatiny (protinádorová cytostatika) na karcinom tlustého střeva (Ambrož et al. 2019). V další studii byl dáván důraz na možnou schopnost  $\alpha$ -humulenu podporovat cytotoxicitu doxorubicinu při léčbě karcinomu vaječníků (Ambrož et al. 2017).

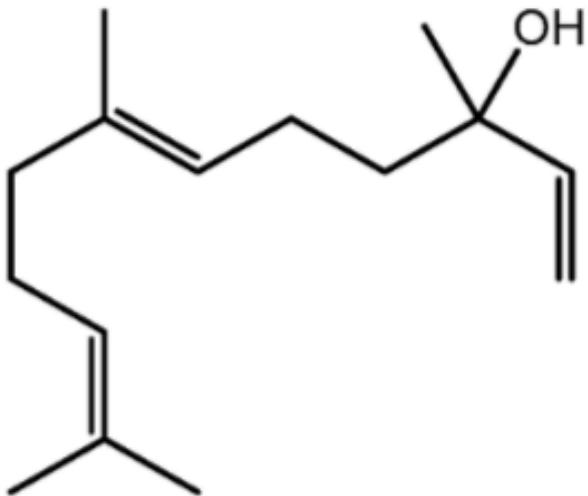


Obrázek 27 - strukturní vzorec  $\alpha$ -humulenu (Radwan et al. 2021)

#### Nerolidol

Nerolidol je seskviterpenový alkohol, který lze nalézt v EO jasmínu, čajovníku, zázvoru, levandule nebo citronové trávě. Vůni nerolidolu lze připodobnit k vůni čerstvé kůry (Tomko et al. 2020). Nerolidol se chová antiparaziticky (Hanuš & Hod 2020) a byla prokázána jeho

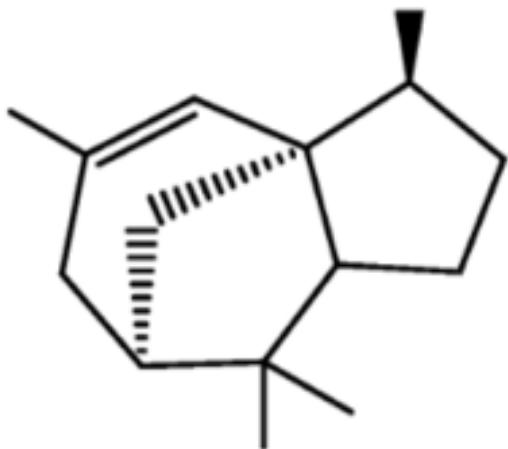
protinádorová aktivita vůči karcinomu prsu a jater. U potkanů byla sledována jeho unhibiční schopnost u rakoviny tlustého střeva a dvanáctníku (Tomko et al. 2020). Kromě jiných terpenů i nerolidol vykázal značný potenciál v kombinaci s doxorubicinem, a to konkrétně při inhibici proliferace nádorových buněk tlustého střeva, přičemž zdravé buňky nepoškodil (Ambrož et al. 2015).



Obrázek 28 - strukturní vzorec nerolidolu (Radwan et al. 2021)

#### $\alpha$ -Cedren

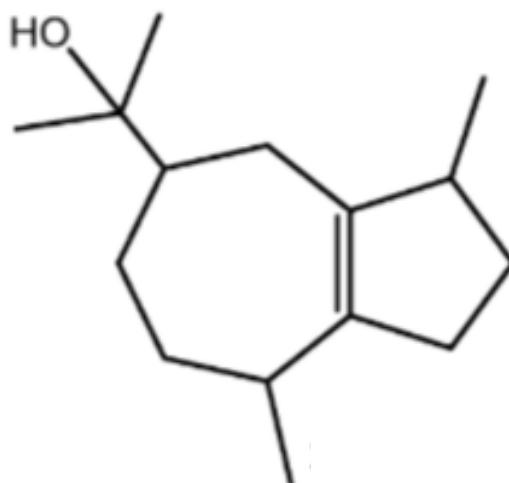
$\alpha$ -Cedren je seskviterpen primárně se vyskytující v EO z cedrového dřeva. Kromě konopí se dále vyskytuje v několika čeledích dalších rostlin, jako například *Cupressaceae*, *Cephalaria*, *Acoraceae*, *Euphorbiaceae* a dalších. U  $\alpha$ -cedrenu byly při pokusech na potkanech prokázány trypanocidní, antileukemické a antimikrobiální účinky (Kim et al. 2015).



Obrázek 29 - strukturní vzorec  $\alpha$ -cedrenu (Radwan et al. 2021)

### **$\beta$ -Eudesmol**

$\beta$ -Eudesmol je antiangiogenní, protinádorový a antihepatotoxicický seskviterpen (Hanuš & Hod 2020), který ve svém EO obsahují vlašské ořechy, lopuch, bazalka a ginkgo ořechy (Tomko et al. 2020).  $\beta$ -Eudesmol má potvrzené antiproliferační schopnosti při rakovině plic a tlustého střeva (Sghaier et al. 2016).

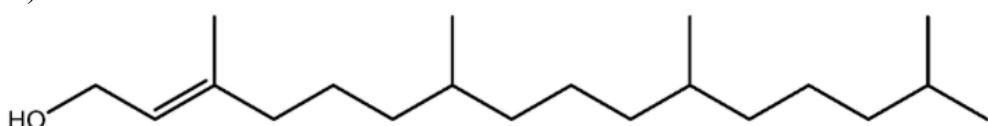


Obrázek 30 - strukturní vzorec  $\beta$ -eudesmolu (Radwan et al. 2021)

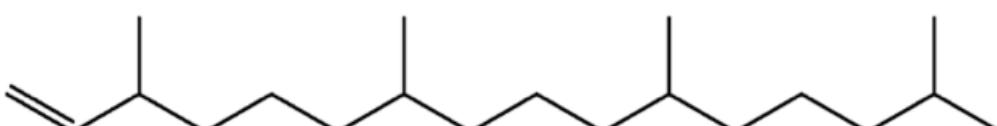
#### 3.4.2.3 Diterpeny

##### Fytol, Neofytadien

Fytol je acyklickým diterpenem vyskytujícím se v EO některých rostlin, například *Lantana radula* nebo *Cleome serrate*. Fytol funguje jako vitální biomarker u Refsumovy choroby, chronické polyneuropatie a dalších onemocnění (Taj et al. 2021). Dále jsou potvrzeny jeho cytotoxické (Bobe et al. 2020), anxiolytické, antinociceptivní, antioxidační, protizánětlivé, imonomodulační, antimikrobiální a metabolismus modulující účinky (Islam et al. 2018). Neofytadien je diterpen vykazující anxiolytické a antikonvulzivní účinky (Gonzalez-Rivera et al. 2023).



Obrázek 31 - strukturní vzorec fytolu (Radwan et al. 2021)



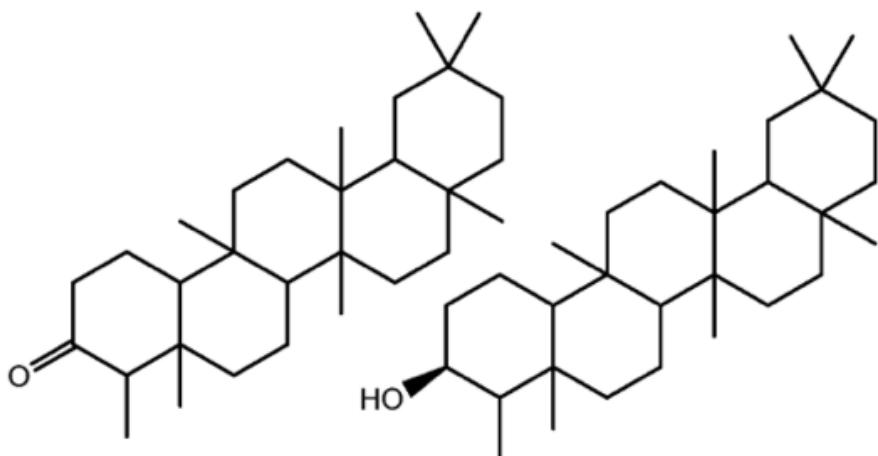
Obrázek 32 - strukturní vzorec neofytadienu (Radwan et al. 2021)

#### 3.4.2.4 Triterpeny

##### Friedelin, Epifriedelanol

Friedelin je pentacyklický triterpen s antioxidačními, protirakovinnými, protizánětlivými a antimikrobiálními vlastnostmi. Friedelin funguje jako insekticid a vykazuje slabou

cytotoxicitu ke zdravým buňkám, což z něj činí potenciální fytochemický lék (Singh et al. 2023). Epifriedelanol vykazuje antibakteriální aktivitu, a to zejména vůči *Staphylococcus aureus* (Msengwa et al. 2023).



Obrázek 33 - strukturní vzorec friedelinu (vlevo); epifriedelanolu (vpravo) (Radwan et al. 2021)

### 3.4.3 Ostatní biologicky aktivní látky

#### 3.4.3.1 Flavonoidy

Flavonoidy jsou sekundární metabolity, kterých bylo v konopí detekováno přibližně 20, přičemž většina z nich se řadí do podtříd flavonů a flavonolů. Mezi zástupce patří například kannflavin a kannflavin B, flavonoidy, jejichž výskyt se uváděl výhradně v konopí (Andre et al. 2016), nicméně Salem et al. (2011) identifikovali kannflavin a také v *Mimulus bigelovii*. Do podtřídy flavonů spadá apigenin a luteolin, zatímco do podtřídy flavonolů patří kaempferol a quercetin. Biologická aktivita kannflavinů a dalších flavonoidů z nich činí žádoucí bioprodukt (Bautista et al. 2021).

#### 3.4.3.2 Stilbenoidy

Stilbenoidy jsou skupinou sekundárních metabolitů konopí. Celkově bylo v konopí identifikováno 19 stilbenoidů, mezi které patří kanabistilben I, kanabistilben IIa, kanabistilben IIb a dihydroresveratrol (Andre et al. 2016). Některé stilbenoidy vykazují cytotoxicitu vůči lidským nádorovým buňkám prostřednictvím inhibice proliferace těchto buněk a navození buněčné smrti. Dále je pravděpodobné, že stilbenoidy mají schopnost zvýšit přenos cholesterolu do hepatocytů, takže by mohly fungovat jako prospěšná složka ve funkčních potravinách a léčivech (Guo et al. 2018).

#### 3.4.3.3 Alkaloidy

Alkaloidy jsou heterocyklické organické sloučeniny, které jsou syntetizovány především rostlinami, ale i mikroorganismy a zvířaty. Mezi konopné alkaloidy patří například kanabisativin nebo anhydrokanabisativin (Lowe et al. 2021) s analgetickými, antiparazitními, antiemetickými, protinádorovými, diuretickými, antiparazitickými a antipyretickými účinky (Wink 2020).

### 3.5 Přesnost služebních psů v rozeznávání konopí od ostatních rostlin

Služební psi jsou díky svým schopnostem detektovat nejrůznější typy drog nedílnou součástí policejních složek, nicméně způsob, kterým drogy identifikují, není prozatím plně objasněn (Svensson 2023). Je známo, že zásadní roli má při detekci pachový profil dané látky (Kokocińska-Kusiak et al. 2021). Problém je v chemickém zkoumání těchto látek, protože mezi koncentrací detekované látky nebo látek a její/jejich podílem na pachovém profilu drogy obvykle neexistuje příma korelace, což platí zejména pro konopí. To znamená, že látka nebo látky, které má/mají v droze, byť jen minoritní zastoupení může/mohou mít hlavní podíl na jejím pachovém profilu, například z důvodu velké intenzity svého pachu. U konopí jsou v tomto ohledu sledovány zejména terpeny a terpenoidy z důvodu jejich převážně těkavé povahy (Svensson 2023).

Dle výsledků studií Rice & Koziel (2015) a Cannos et al. (2015) se potvrdilo 58 různých těkavých sloučenin, které se vyskytují jak v silici konopí, tak v citronové kůře, včetně například limonenu,  $\alpha$ -pinenu a  $\alpha$ -terpinenu. Některé další články zabývající se terpeny a terpenoidy v konopí a citronu uvádí identifikaci 80 ze 120 terpenů a terpenoidů vyskytujících se v konopí i v EO citronové kůry (Turner et al. 1980; Ross & ElSohly 1995; González-Mas et al. 2019).

Pro detekovatelnost konopí se mohou využívat modelové systémy, které najdou uplatnění především v zemích, kde je držení konopí nelegální. Principem modelového systému je nalézt látku nebo rostlinu co nejpodobnější sledovanému cíli (konopí) a zároveň s absencí problematického faktoru. Pro výcvik detekčních psů na vyhledávání konopí se zdá být vhodná již zmiňovaná citronová kůra, nicméně problém je v komplikovanosti jejích sloučenin. Jako efektivnější cesta se jeví použití pouze jedné látky, jako například limonenu, nebo jeho kombinaci s dalšími terpeny a terpenoidy nalezených v konopí (Svensson 2023), jako pseudo materiálu.

Pseudo-pachy (pseudo) jsou pachové napodobeniny původního materiálu využívané mimo jiné pro účely rozeznávání konopí od ostatních siličnatých rostlin. Pseudo zahrnuje látku nebo směs látek, která se vyskytuje v původním materiálu, nicméně původní materiál nebyl pro výrobu pseuda použit. V případě pseuda pro detekci konopí se nejprve identifikují hlavní chemické složky konopí a následně se v čisté podobě použijí pro výrobu směsi, která má simulovat pachový profil konopí (Simon et al. 2020).

Mezi hlavní terpeny dominující ve většině genotypů konopí patří  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -myrcen, limonen a  $\beta$ -karyofylen, nicméně studie Macias et al. 2008 došla k závěru, že detekční psi nijak neoznačili ani neprojevili zájem o pseudo vzorek směsi těchto sloučenin. Z výsledku studie lze odvodit, že za specifickou vůni konopí jsou tedy zodpovědné jiné sloučeniny, nicméně nemusí tomu tak být. Pseudo materiály mohou mít několik nevýhod. Konopí ve formě původního materiálu může v čase, změnou prostředí a skladovacími podmínkami zásadně měnit svůj pachový profil, což činí výrobu přesných pseudo materiálů velmi obtížnou. Z toho vyplývá, že jedna kombinace čistých pseudo materiálů nemusí představovat pachový profil skutečného konopí. Dále je známo, že pseudo materiály emitují mnohem silnější pach než původní materiál, což by potencionálně mohlo ovlivnit prahovou hodnotu detekce psa pro danou látku (Kranz et al. 2014).

## **3.6 Extrakční a analytické metody**

### **3.6.1 Extrakční metody**

#### **3.6.1.1 Destilace**

Destilace je extrakční metoda často používaná pro izolaci těkavých sloučenin, jako jsou například rostlinné EO (Zheljazkov & Maggi 2021; Chemat & Boutekejdirekt 2015). V průběhu destilace dochází k uvolnění EO prostřednictvím odpařování pomocí par z vroucí vody. Vzhledem k tomu, že probíhá destilace dvou nemísitelných tekutin, je izolace rostlinných olejů poměrně jednoduchá. Destilace je založena na principu vyrovnanosti kombinovaného tlaku par a okolního tlaku při teplotě varu, takže se složky EO, jejichž bod varu se většinou pohybuje okolo 200 až 300 °C odpařují při teplotě blízké teplotě vroucí vody. Pára nasycená EO stoupá směrem vzhůru a je jímána do chladiče, který je chlazen studenou vodou z vnějšího zdroje. Pára s EO kondenzuje a stéká do baňky, kde se voda a EO přirozeně oddělují, přičemž lehčí olej zůstává na hladině. Výsledný objem a kvalita vydestilovaných EO je ovlivněn čtyřmi skutečnostmi – teplotě destilace, provozním tlaku (Chemat & Boutekejdirekt 2015), destilační době (Palmieri et al. 2021) a obzvláště druhu a kvalitě rostlinného materiálu. Výtěžnost EO se obvykle pohybuje od 0,005 do 10 %, dle druhu rostliny (Chemat & Boutekejdirekt 2015).

#### **3.6.1.2 Superkritická fluidní extrakce (SFE)**

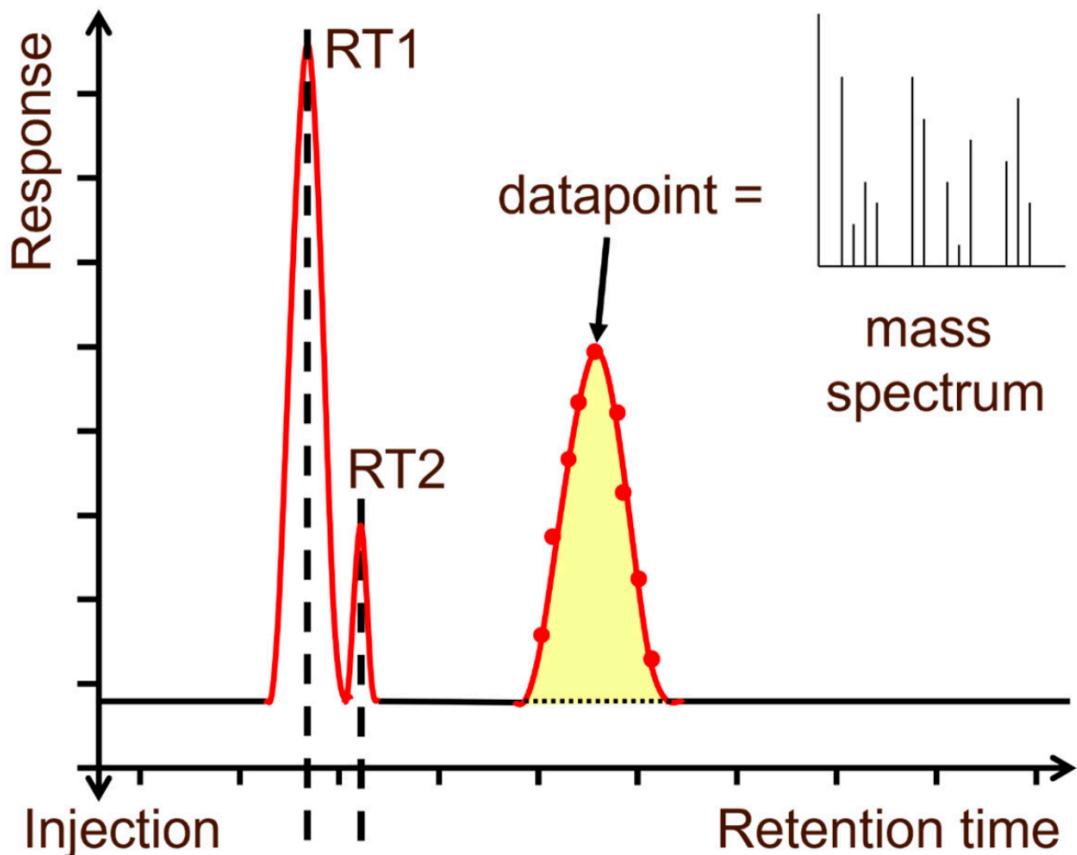
Superkritická fluidní extrakce je metoda založená na principu oddělení extrahovaných složek pomocí superkritických kapalin, které jsou využívány jako extrakční rozpouštědlo (Naikoo et al. 2021). Pomocí SFE metody lze materiál extrahovat za nízkých teplot, což zabrání degradaci extrahovaných látek teplotou. Superkritické kapaliny jsou specifické vlastnostmi, kterých nabývají, když se dostanou do svého kritického bodu (Capuzzo et al. 2013). Do kritického bodu se látka dostane úpravou tlaku a teploty (Perez-Vazquez et al. 2023) a chová se pak podobně jako kapalina nebo plyn (Capuzzo et al. 2013). SFE je vhodná pro extrakci polárních i nepolárních sloučenin, včetně různých rostlinných EO a nachází tak využití v potravinářském průmyslu (Perez-Vazquez et al. 2023).

### **3.6.2 Analytické metody**

#### **3.6.2.1 Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS)**

Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) se, jak již název napovídá, skládá ze dvou odlišných analytických metod. Přístroj je zpravidla složen z plynového chromatografu, který je prostřednictvím vyhřívaného přenosového potrubí napojen na hmotnostní spektrometr, přičemž procesy v obou částech probíhají odděleně. Plynová chromatografie (GC) je separační metoda umožňující oddělení jednotlivých chemických složek různých sloučenin nebo směsí vzorků a následně je detektovat s cílem určit, zda jsou či nejsou přítomné, případně v jakém množství. Identifikace látek probíhá pomocí GC detektorů, které poskytují retenční časy píků ve vzorku a ve standardu známé sloučeniny, které se následně porovnávají. Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická metoda sloužící k meření poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ) nabitých částic. Využívá se k identifikaci chemických struktur

molekul, jejich elementárnímu složení a určení molekulové hmotnosti. Výsledkové hodnoty z GC-MS jsou trojrozměrné a poskytují hmotnostní spektra umožňující s vysokou přesností potvrzovat identity neznámých sloučenin. Součástí výsledků je také chromatogram viz Obrázek 34, který se využívá zejména ke kvalitativní a kvantitativní analýze (Turner 2022).



Obrázek 34 - příklad výstupu z celkového intového chromatogramu z GC-MS (osa x = retenční čas; osa y = relativní absorbance) (Turner 2022)

### 3.6.2.2 Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID)

Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID) funguje velmi podobně jako GC-MS, avšak rozdíl je v detektoru. Plamenový ionizační detektor (FID) využívá plamen spalující vodík situovaný na konci chromatografické kolony, kde štěpí plynné organické sloučeniny při vstupu do něj. Organické sloučeniny se následně rozkládají na kationty a elektrony a vytváří proud mezi dvěma elektrodami umístěnými na obou stranách plamene. Množství proudu vzniklého tímto dějem slouží ke kvantifikaci uhlíků v molekule (Greenwood 2021).

Pro kvantifikaci kanabinoidů je však kombinace GC s plamenovým ionizačním detektorem (FID) lepší z důvodu přesnejší kvantifikace díky možnosti používat poměrně nenákladné autentické standardy. Naproti tomu MS povětšinou vyžaduje drahé kvantifikovatelné deuterizované standardy, které navíc nejsou dostupné pro všechny kanabinoidy (Lazarjani et al. 2020).

### 3.6.2.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), jinak také známá jako vysokotlaká kapalinová chromatografie, je analytická metoda umožňující separaci, identifikaci a kvantifikaci jednotlivých složek daného vzorku. Obecný princip chromatografie je založen na separaci složek pomocí kolony obsahující stacionární a mobilní fázi, přičemž k oddělení jednotlivých složek dochází na základě diference mezi rozdělovacími koeficienty obou fází. Mobilní fázi tvoří rozpouštědlo například v podobě vody a různých dalších rozpouštědel jako acetonitrilu, methanolu (Gorhe & Pawar 2018), hexanu (Sah et al. 2021) nebo isopropylalkoholu (Quiming et al. 2007), dle chemické povahy vzorku. Pro HPLC se využívají velmi malé objemy vzorků, obvykle v řádu mikrolitrů. Stacionární fáze je tvořena pevným adsorbentovým materiélem v podobě granulí obvykle o velikosti 2 až 50 mikrometrů. Typ materiálu stacionární fáze se odvíjí od typu vzorku a mobilní fáze, může se jednat například o granule z křemíku, polymerů a dalších látek. Mobilní fáze běžně protéká stacionární fází samovolně, v případě HPLC je na ni ale vyvýjen vysoký tlak, což umožňuje separaci vzorku do jednotlivých složek na principu rozdílu relativních afinit. Doba průtoků jednotlivých složek vzorku závisí na jejich složení a složení mobilní fáze. Doba od vstupu do výstupu analytu vzorku se nazývá retenční čas, který je pro každý analyt specifický a dále umožňuje jeho identifikaci (Gorhe & Pawar 2018). Z kolony přejde analyt do detektoru, jehož funkce spočívá v zaznamenávání retenčních časů jednotlivých analytů a pomocí datového systému převádění naměřených hodnot na měřitelný signál, ze kterého lze následně vytvořit chromatogram (Swartz 2010).

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Biologický materiál

Rostliny pro tento experiment byly vypěstovány indoorovým způsobem v kontrolovaných podmírkách na Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů (FAPPZ) na České zemědělské univerzitě (ČZU).

#### 4.1.1 Analyzované genotypy konopí

Tabulka 1 - analyzované genotypy konopí a jejich charakteristika ([www.seedfinder.com](http://www.seedfinder.com); [www.leafly.com](http://www.leafly.com))

Genotyp	Šlechtitel	Rodokmen	Sat/Ind (%)	Vegetace	Indikace
<b>Shaman</b>	Dutch Passion	Purple x Unknown Skunk	87,5/12,5	8-9 týdnů	Pro psychickou pohodu; úlevu od bolesti; při anorexii, kachexii a autoimunitních onemocněních
<b>Blueberry</b>	Dutch Passion	Thailand x Afghani x Purple Thai	20/80	8-10 týdnů	Proti bolesti; při anorexii a kachexii
<b>CBD Caramel</b>	Barney's Farm	Brazilian x Himalaya x Afgan x CBD x Enriched	30/70	50-60 dní	Proti stresu, úzkosti, depresi
<b>Forbidden Fruit</b>	Fair Seeds	Cherry Pie x Tangie	převážně sativa	9 týdnů	Vyhledávané pro svou chuť; proti depresi, úzkosti a stresu
<b>Kanabidiol*</b>	neznámý	neznámý	převážně sativa	8-9 týdnů	Obecně vhodný pro léčebné účely

\*zakoupeno od firmy SensiQure

#### 4.1.2 Siličnaté rostliny

Pro analýzu byly použity následující siličnaté rostliny: šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*), máta pepřná (*Mentha piperita*), levandule lékařská (*Lavandula officinalis*), tymián obecný (*Thymus vulgaris*), yzop lékařský (*Hyssopus officinalis*), kmín kořenný (*Carum carvi*), meduňka lékařská (*Melissa officinalis*), bedrník anýz (*Pimpinella anisum*), šanta kočičí (*Nepeta cataria*), dobromysl obecná (*Origanum vulgare*).

#### 4.1.3 Destilace

Destilovány bylo 5 genotypů konopí, a to CBD, BB5, FF5, CBD6 a SH5. Nejprve byla připravena destilační aparatura, poté byly naváženy vzorky s navázkou po 20 gramech. Každý vzorek byl následně umístěn do destilační baňky se dvěma varnými kamínky a zalit 200 mililitry destilované vody. Zdroj byl zapnut na maximum zhruba 10 minut, než se vzorek začal vařit. Následně byl zdroj ztlumen na přibližně poloviční výkon, při kterém destilace probíhala 90 minut. Po ukončení destilace byly vydestilované silice stočeny do vialek a umístěny do mrazáku kvůli vyloučení veškeré volné vody. Silice byly použity jako součást experimentu se služebními psi Celní správy ČR, v rámci probíhajícího projektu na FAPPZ.



Obrázek 35 - destilační aparatura se vzorky genotypů konopí



Obrázek 36 - vialeky s vydestilovanými silicemi

## 4.2 Chemikálie

Pro analýzu byly použity následující chemikálie:

- 96% ethanol,
- methanol,
- standardy kanabinoidů od firmy Sigma-Aldrich (CBDV, CBDA, CBGA, CBG, CBD, THCV, CBN, THC, CBC, THCA-A),
- standardy terpenů od firmy Sigma-Aldrich (Terpene Mix A, Terpene Mix B).

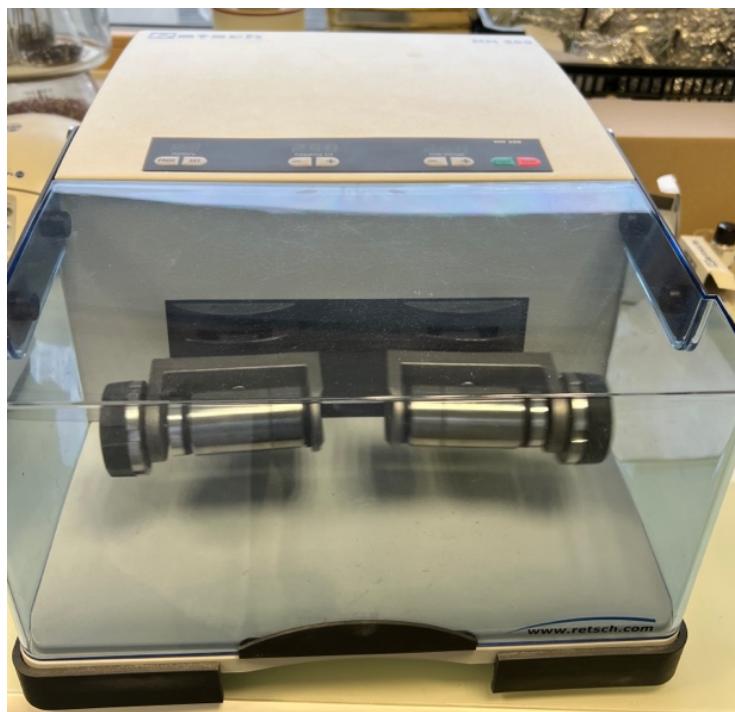
## 4.3 Kvantifikace biologicky aktivních látek

BAL byly identifikovány pomocí analytických metod GC-FID a HPLC/UV.

### 4.3.1 Příprava vzorku

#### 4.3.1.1 Homogenizace

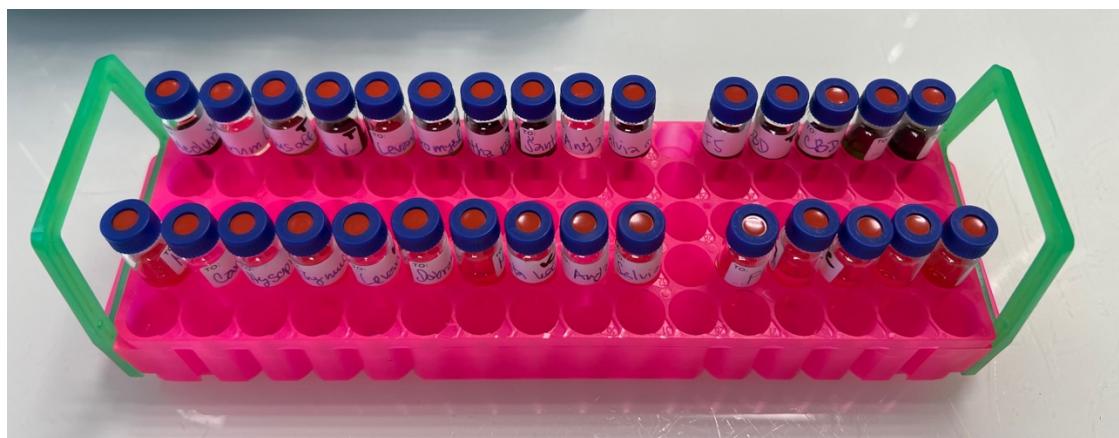
Všechny siličnaté rostliny vybrané k analýze byly jednotlivě zhomogenizovány v kulovém mlýně (oscilační mlýn MM 200; Retsch; Německo) společně s kovovými kuličkami dvou velikostí v horizontální poloze. Dvě velikosti kovových kuliček byly použity z důvodu rozdílné povahy vzorků. Po zapnutí přístroje začnou kovové kuličky uvnitř homogenizačních ampulí svými silnými nárazy postupně homogenizovat vzorek, a to při frekvenci 25 kmitů za sekundu. Doba, za kterou se vzorek dostatečně zhomogenizoval se odlišovala v závislosti na povaze materiálu vzorku.



Obrázek 37 - oscilační kulový mlýn MM 200 s ampulemi se vzorky

#### 4.3.1.2 Extrakce

Zhomogenizované vzorky byly jednotlivě přemístěny z homogenizačních ampulí do centrifugačních zkumavek ( $V = 15 \text{ ml}$ ), a to spolu s kovovými kuličkami, neboť částečky rozmělněného vzorku měly tendenci ulpívat na jejich povrchu. Homogenizační ampule byla vypláchnuta 96 % ethanolem o požadovaném množství tak, aby byla dosažena potřebná koncentrace ( $C = 100\text{mg/ml}$ ) a nedošlo k výraznějším ztrátám BAL. Pro efektivnější extrakci materiálu do rozpouštědla byly připravené vzorky vloženy na 30 minut do ultrazvukové lázně (Bandelin Sonorex Digitec DT 510 F; Německo). Následně byly vyjmuty kovové kuličky a vzorky byly centrifugovány po dobu 10 min, teplotě  $20^\circ\text{C}$  a RCF (relativní odstředivá síla) 9000 otáček. Zcentrifugované vzorky byly přefiltrovány přes membránový filtr (LUT Syringe PTFE, 13 mm,  $0,45 \mu\text{m}$ ) a převedeny do vialek o objemu 2 ml, viz Obrázek 36.



Obrázek 38 - vialky se vzorky připravenými k analýze

#### 4.3.2 Stanovení kanabinoidů pomocí HPLC/UV

Kanabinoidy byly ve vzorcích stanovovány za použití HPLC UltiMate 3000 (Thermo Fisher, USA) s UV detektorem. Pro analýzu byla použita kolona Excel Super C18, teplota detektoru byla nastavena na  $40^\circ\text{C}$ . Vzorky byly nastříkovány v objemu  $10 \mu\text{l}$  a průtoková rychlosť činila  $1 \text{ ml/min}$ . Detekované látky byly identifikovány a kvantifikovány pomocí standardů od firmy Sigma-Aldrich.

### 4.3.3 Stanovení terpenických látek pomocí GC-FID

Terpeny byly ve vzorcích stanovovány za použití plynového chromatografu s plamenově-ionizačním detektorem (GC-FID) Agilent Technologies 6890N (Palo Alto, CA, USA). Detekované látky v konopí a vybraných siličnatých rostlinách byly identifikovány pomocí standardů Terpene Mix A a Terpene Mix B od firmy Sigma-Aldrich. Ostatní parametry pro analýzu GC-FID jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2 - parametry pro GC-FID analýzu terpenických látek

Parametry	GC-FID
Kolona	15 m x 0,25 mm, 0,25 µm
Mobilní fáze	5 % Difenyl – 95 % Dimethylpolysiloxane
Nosný plyn	dusík, 1.1 ml/min, konstantní tok
Režim nástřiku	Split 280 °C
Dělící poměr	20:01
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

### 4.4 Statistické vyhodnocení

Srovnatelné složení terpenických látek jednotlivých genotypů konopí a siličnatých rostlin je vyjádřeno indexy (a, b, c, d, e). Srovnatelné množství je vyhodnoceno jako poměr obsahu dané látky v rostlině vůči obsahu látky v konkrétním genotypu konopí (směrodatné hodnoty  $1,0 \pm 0,4$ ). Toto vyhodnocení pomůže částečně definovat, které látky služební psi v konopí detekují.

## 5 Výsledky

### 5.1 Obsah kanabinoidů v jednotlivých genotypech konopí

Genotyp SH5 – Shaman obsahoval ze zkoumaných kanabinoidů nejvíce celkového  $\Delta^9$  – THC, přičemž poměr THCA-A (kyselina tetrahydrokanabinolová) a  $\Delta^9$  – THC byly podobné, nicméně podíl THC na celkovém  $\Delta^9$  – THC mírně převažoval. Obsah celkového CBD a CBG byl velmi podobný, přičemž celkové CBD bylo tvořeno pouze CBDA (kyselina kanabidiolová), CBD se nevyskytoval. Nejméně zastoupeným kanabinoidem byl THCV (tetrahydrokanabivarín), přičemž CBDV (kanabidivarín) se stejně jako CBD vůbec nevyskytoval.

Genotyp BB3 – Blueberry obsahoval ze zkoumaných kanabinoidů nejvíce celkového  $\Delta^9$  – THC, přičemž podíl THCA-A byl přibližně 2x vyšší než u  $\Delta^9$  – THC. Nejméně obsaženým kanabinoidem byl THCV, přičemž CBDV se vůbec nevyskytoval.

Genotyp CBD6 – CBD karamel vykazoval ze zkoumaných kanabinoidů nejvíce celkového CBD, přičemž jeho velkou většinu tvořila CBDA. Sestupně následovaly svými koncentracemi celkový  $\Delta^9$  – THC, celkový CBG, CBC a CBN. CBDV se vyskytovalo v minimálním množství. THCV nebyl vůbec obsažen.

Genotyp CBD – kanabidiol obsahoval ze zkoumaných kanabinoidů nejvíce celkového CBD, jehož podíl byl tvořen převážně CBDA. Celkové  $\Delta^9$  – THC bylo v genotypu obsaženo zhruba v polovičním množství celkového CBD. Nejméně byl obsažen THCV.

Genotyp FF5 – Forbidden Fruit dominoval ze zkoumaných kanabinoidů v obsahu celkového  $\Delta^9$  – THC, na kterém se z většiny podílela THCA-A. Celkové CBD a celkové CBG byly obsaženy v porovnání s celkovým  $\Delta^9$  – THC v minimálním množství. Nejméně zastoupeným kanabinoidem v FF5 byl CBDV.

V celkovém hodnocení napříč genotypy měl nejvíce celkového  $\Delta^9$  – THC jednoznačně FF5 – Forbidden Fruit, a zároveň nejméně celkového CBD ze všech zkoumaných genotypů. Nejvíce celkového CBD vykázal s určitostí CBD (kanabidiol). Nejvíce celkového CBG obsahoval genotyp BB3 – Blueberry, nejméně CBD6 – CBD karamel. BB3 – Blueberry a SH5 – Shaman vykázaly podobný obsah celkového  $\Delta^9$  – THC, BB3 vykázalo však značně vyšší obsah celkového CBD.

Tabulka 3 – obsah kanabinoidů v jednotlivých genotypech konopí ( $\mu\text{g/g}$ )

	<b>SH5</b>	<b>BB3</b>	<b>CBD6</b>	<b>CBD</b>	<b>FF5</b>
<b>THCA-A</b>	9885,36	12918,08	7158,90	12363,53	44595,87
<b>THC</b>	11018,41	6601,23	4601,95	3502,42	7169,32
<b>THC celkem</b>	20903,77	19519,31	11760,85	15865,95	51765,19
<b>CBDA</b>	562,23	6182,47	16112,69	24957,55	442,55
<b>CBD</b>	x	1775,03	3213,10	5844,13	27,82
<b>CBD celkem</b>	562,23	7957,50	19325,79	30801,68	470,37
<b>CBGA</b>	318,77	1211,45	268,82	861,50	535,09
<b>CBG</b>	245,91	203,98	154,47	230,54	172,13
<b>CBG celkem</b>	564,68	1415,43	423,29	1092,04	707,22
<b>CBN</b>	363,92	131,04	72,86	1164,46	158,60
<b>CBC</b>	253,14	220,94	157,93	353,40	119,89
<b>THCV</b>	45,23	20,92	x	2,38	18,28
<b>CBDV</b>	x	x	6,23	49,35	8,22

### **5.3 Obsah terpenických a kanabinoidních látek v siličnatých rostlinách a genotypech konopí**

Indexy u jednotlivých koncentrací terpenů značí ty terpeny, které se kromě siličnaté rostliny vyskytují i v některém z genotypů konopí. Každé písmeno představuje jeden zkoumaný genotyp viz Tabulka 4. Červeně zvýrazněné indexy jsou u těch terpenů, které se v siličnaté rostlině a v genotypu nacházely ve srovnatelné koncentraci (dále jen conc.). V šedě označené oblasti Tabulky 5 se nachází ty terpeny, jejichž koncentrace byla vyhodnocena jako nevýznamná, a proto nebyly do srovnávání zařazeny.

Myrcen se vyskytuje v rámci siličnatých rostlin pouze v šalvěji a kmínu, nicméně je obsažen ve všech zkoumaných genotypech konopí, nejvíce pak v FF5 a nejméně v CBD. Kmín vykázal vyšší conc. tohoto terpenu než šalvěj a zároveň je jeho conc. srovnatelná s conc. v genotypech BB3 a CBD.  $\alpha$ -Pinen je jednoznačně nejvíce obsažen v šalvěji, dále pak i v tymiánu, přičemž v šalvěji je jeho conc. srovnatelná s conc. v genotypech SH5 a CBD. Konc.  $\alpha$ -pinenu v tymiánu je srovnatelná s conc. v CBD6. Kromě zmíněných genotypů se  $\alpha$ -pinen vyskytuje i v BB3, přičemž nejvyšší conc.  $\alpha$ -pinenu je v rámci genotypeů v SH5 a nejnižší v CBD6.

Přítomnost  $\beta$ -pinenu vykazoval pouze tymián a genotypy SH5, BB3 a FF5, kde byla jeho conc. nejvyšší. Ve srovnatelné conc. byl obsažen v genotypu BB3, přičemž ze všech genotypů, ve kterých se  $\beta$ -pinen vyskytoval byla conc. v BB3 nejnižší. Obsah  $\Delta 3$ -karenu vykázal pouze genotyp SH5 a žádná ze siličnatých rostlin. Limonen byl obsažen ve vysokém množství v kmínu, vysokou conc. vykázala i levandule. Dále se vyskytoval v šalvěji, mátě a nejméně v tymiánu. Limonen se vyskytoval ve všech zkoumaných genotypech, přičemž v nevyšší conc. v FF5 a v nejnižší conc. v SH5. Jeho conc. v mátě je srovnatelná s conc. v BB3 a CBD6, zatímco jeho conc. v tymiánu je srovnatelná s conc. v SH5. Terpinolen se vyskytoval v poměrně hojném množství pouze v levanduli, nicméně žádný ze zkoumaných genotypů jej neobsahoval. Konc. linaloolu byl značná u levandule, dále se vyskytoval ještě v anýzu, tymiánu a šalvěji. Ze zkoumaných genotypů se vyskytoval v SH5, CBD a CBD6, kde je jeho conc. nejvyšší. Srovnatelnou conc. linaloolu má anýz s SH5 a CBD, dále šalvěj s SH5.

$\alpha$ -Terpineol vykazovala pouze levandule a kmín, přičemž vyšší conc.  $\alpha$ -terpineolu byla sledována u levandule. Ze zkoumaných genotypů se  $\alpha$ -terpineol vyskytoval v CBD a FF5, přičemž conc. v FF5 byla vyšší než v CBD. Nicméně ani u jedné siličnaté rostliny nelze potvrdit srovnatelnou conc. s některým z genotypů.  $\beta$ -Karyofylen byl nalezen v šalvěji, kde byla jeho conc. nejvyšší, dále v levanduli a mátě a vyskytoval se zároveň ve všech zkoumaných genotypech konopí. V BB3 byla conc.  $\beta$ -karyofylenu nejvyšší, v SH5 nejnižší, srovnatelnou conc.  $\beta$ -karyofylenu v šalvěji však vykázal pouze SH5.  $\alpha$ -Humulen se vyskytoval v šalvěji v poměrně vysoké conc., dále byl detekován v anýzu a ve všech zkoumaných genotypech konopí. Nejvyšší conc. byla sledována u BB3, nejnižší pak u CBD6. Srovnatelná conc. byla sledována u šalvěje a SH5 a u anýzu s SH5 a CBD6.

cis-Nerolidol vykazovala v rámci siličnatých rostlin pouze šanta kočičí a anýz, přičemž conc. v anýzu byla ve srovnání s conc. v šantě kočičí zhruba poloviční. cis-Nerolidol se vyskytoval ve všech zkoumaných genotypech konopí, nicméně u žádného z nich nelze potvrdit srovnatelnou conc. s některou ze siličnatých rostlin. Cedrol vykázala pouze šalvěj v poměrně malém množství. Zároveň se cedrol vyskytoval v BB3, CBD6, CBD a FF5, nicméně conc. u

žádného z genotypů nebyla s konc. cedrolu v šalvěji srovnatelná.  $\beta$ -Eudesmol byl detekován v šalvěji ve větší konc. než v levanduli. Dále byl detekován v genotypech BB3, CBD6, CBD a FF5. Srovnatelná konc.  $\beta$ -eudesmolu byla sledována u šalvěje a BB3, CBD6 a FF5.  $\alpha$ -Bisabolol byl potvrzen v anýzu a levanduli. Ze zkoumaných genotypů byl obsažen v SH5, BB3, CBD6 a CBD, nicméně konc.  $\alpha$ -bisabololu v anýzu ani v levanduli není srovnatelná s žádnými zkoumanými genotypy. Fenchol se vyskytuje ve větším množství v šalvěji, dále pak v levanduli. Ze zkoumaných genotypů se vyskytuje pouze v FF5, nicméně konc. fencholu v šalvěji ani v levanduli není srovnatelná s konc. v FF5.

Kamfen a kamfor se ve značné koncentraci vyskytovali v šalvěji. Tyto terpeny se dále vyskytovali i v levanduli, přičemž v nejvyšším množství kamfor, dále pak kamfen. Kamfen ani kamfor nebyly sledovány v žádném ze zkoumaných genotypů konopí. Isoborneol se vyskytoval ve značné koncentraci v mátě, dále pak v yzopu a šalvěji. Nejvyšší koncentrace borneolu byla zaznamenána u šalvěje, dále pak u levandule a máty. Geraniol se vyskytoval pouze v levanduli, a to ve značném množství. para-Cymen se vyskytoval ve velmi vysoké koncentraci pouze u tymiánu. Dále je obsažen v šalvěji. Geranil acetát vykazovala pouze anýz a šanta kočičí. Mentol byl ve vyšší koncentraci obsažen pouze v mátě a yzopu. V malém množství ho obsahovala ještě levandule. Pulegon byl obsažen pouze v tymiánu.

Terpeny  $\alpha$ -cedren,  $\gamma$ -terpinen, citronellol,  $\alpha$ -terpinen, fytol I, nerolidol a  $\Delta$ 3-karen nebyly obsaženy v žádné ze zkoumaných sličnatých rostlin, a proto nejsou v Tabulce 5 uvedeny. Terpeny kamfen, kamfor, isoborneol, borneol, geraniol, para-cymen, fytol I, geranyl acetát, mentol, pulegon,  $\alpha$ -cedren,  $\gamma$ -terpinen, citronellol a  $\alpha$ -terpinen nevykázal žádný ze zkoumaných genotypů, a proto nejsou v Tabulce 4 uvedeny.

Tabulka 4 - obsah terpenických látok v jednotlivých genotypoch konopí ( $\mu\text{g/g}$ )

	<b>SH5<sup>a</sup></b>	<b>BB3<sup>b</sup></b>	<b>CBD6<sup>c</sup></b>	<b>CBD<sup>d</sup></b>	<b>FF5<sup>e</sup></b>
<b><math>\beta</math>-myrcen</b>	134,09	29,44	99,68	27,79	326,37
<b><math>\alpha</math>-pinen</b>	122,20	19,42	10,11	97,35	33,84
<b><math>\beta</math>-pinen</b>	23,61	9,15	x	x	428,13
<b><math>\Delta</math>3-karen</b>	26,45	x	x	x	x
<b>limonen</b>	5,75	20,32	30,06	10,94	123,55
<b>terpinolen</b>	x	x	x	x	x
<b>linalool</b>	12,49	x	50,39	12,63	x
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	x	x	x	6,50	20,60
<b><math>\beta</math>-karyofylen</b>	63,49	168,79	72,75	77,76	140,53
<b><math>\alpha</math>-humulen</b>	19,85	42,64	19,76	23,38	24,39
<b>cis-nerolidol</b>	6,21	4,46	1,60	4,88	4,03
<b>nerolidol</b>	x	x	x	6,54	5,45
<b>cedrol</b>	x	47,17	51,10	54,51	37,37
<b><math>\beta</math>-eudesmol</b>	x	32,02	51,86	69,06	43,95
<b><math>\alpha</math>-bisabolol</b>	12,54	9,91	12,98	38,13	x
<b>fenchol</b>	x	x	x	x	12,70

Tabulka 5 - obsah terpenických látek v jednotlivých siličnatých rostlinách ( $\mu\text{g/g}$ ) - červeně zvýrazněné indexy shodných látek poukazují na srovnatelné množství terpenu v siličnaté rostlině a určitém genotypu

	<b>šalvěj</b>	<b>anýz</b>	<b>šanta</b>	<b>máta</b>	<b>levandule</b>	<b>tymián</b>	<b>yzop</b>	<b>kmín</b>
<b><math>\beta</math>-myrcen</b>	10,75 <sup>abcde</sup>	x	x	x	x	x	x	26,32 <sup>abcd</sup>
<b><math>\alpha</math>-pinen</b>	95,92 <sup>abcd</sup>	x	x	x	x	8,41 <sup>ab</sup> cd	x	x
<b><math>\beta</math>-pinen</b>	x	x	x	x	x	75,45 <sup>abe</sup>	x	x
<b>limonen</b>	52,80 <sup>abcde</sup>	x	x	13,69 <sup>abcde</sup>	301,32 <sup>abed</sup> <sub>e</sub>	3,87 <sup>abede</sup>	x	3315,38 <sup>abcd</sup> <sub>e</sub>
<b>terpinolen</b>	x	x	x	x	956,62		x	x
<b>linalool</b>	5,69 <sup>acd</sup>	7,77 <sup>acd</sup>	x	x	127,59 <sup>acd</sup>	1,89 <sup>acd</sup>	x	x
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	x	x	x	x	69,77 <sup>de</sup>	x	x	25,98 <sup>de</sup>
<b><math>\beta</math>-karyofylen</b>	42,04 <sup>abcde</sup>	x	x	3,58 <sup>abcde</sup>	9,91 <sup>abcde</sup>	x	x	x
<b><math>\alpha</math>-humulen</b>	72,24 <sup>abcde</sup>	13,16 <sup>abcd</sup> <sub>e</sub>	x	x	x	x	x	x
<b>cis-nerolidol</b>	x	9,38 <sup>abcde</sup>	22,16 <sup>abcde</sup>	x	x	x	x	x
<b>cedrol</b>	6,90 <sup>bcd</sup>	x	x	x	x	x	x	x
<b><math>\beta</math>-eudesmol</b>	36,14 <sup>bcde</sup>	x	x	x	15,22 <sup>bcde</sup>	x	x	x
<b><math>\alpha</math>-bisabolol</b>	x	6,84 <sup>abcd</sup>	x	x	0,84 <sup>abcd</sup>	x	x	x
<b>fenchol</b>	105,11 <sup>e</sup>	x	x	x	3,73 <sup>e</sup>	x	x	x
<b>kamfen</b>	147,14	x	x	x	11,30	x	x	x
<b>kamfor</b>	526,08	x	x	x	309,20	x	x	x
<b>isoborneol</b>	4,86	x	x	119,11		x	25,39	x
<b>borneol</b>	129,59	x	x	30,50	41,86	x	x	x
<b>geraniol</b>	x		x	x	153,96	x	x	x
<b>para-cymene</b>	25,86	x	x	x	x	543,74	x	x
<b>geranyl acetát</b>	x	7,06	4,95	x	x	x	x	x
<b>mentol</b>	x	x	x	87,42	6,48	x	55,18	x
<b>pulegon</b>	x	x	x	x	x	4,50	x	x

## 6 Diskuze

Pomocí standardů od firmy Sigma-Aldrich pro terpeny a kanabinoidy bylo identifikováno 23 terpenických látek ze sušených siličnatých rostlin, 16 terpenických a 10 kanabinoidních látek ze sušeného květenství 5 genotypů konopí. Pro tento pokus byly záměrně vybrány genotypy konopí s rozdílným obsahem THC a CBD, protože psi s největší pravděpodobností detekují konopí bez ohledu na obsah kanabinoidů, ale podle přítomnosti terpenů. Macias et al. (2008) ve své studii tuto hypotézu částečně zpochybnila. Psi v jejich pokusu nijak neoznačili ani neprojevili zájem o pseudo vzorek směsi majoritních terpenů vyskytujících se v konopí. Přesvědčivým protiargumentem je nicméně studie provedená Kranz et al. (2014), která tvrdí, že pseudo materiály mohou vlivem široké škály faktorů v čase degradovat, z čehož usuzuje, že kombinace čistých pseudo materiálů nemusí představovat pachový profil skutečného konopí. Svou teorii podporuje dále tvrzením, že pseudomateriály emitují mnohem silnější pach než původní materiál, což by potencionálně mohlo ovlivnit prahovou hodnotu detekce psa pro danou látku a tím následně způsobit jeho nezájem o ni. Psi tedy velmi pravděpodobně detekují konopí na základě obsahu určitých terpenických látek.

Z tohoto důvodu byla provedena identifikace a kvantifikace terpenických látek i v siličnatých rostlinách, díky čemuž bude možné lépe chápout mechanismus detekce konopí psi. Terpeny, které byly ze zkoumaných genotypů identifikovány jsou terpeny běžně se v konopí vyskytují, což dokládá například výzkum uskutečněný týmem Janatová et al. (2022). Dále tuto skutečnost potvrzuje studie zaměřující se na identifikaci a kvantifikaci terpenů v konopí, kterou provedli Ibrahim et al. (2019). Janatová et al. (2022) ve svém výzkumu dokázali identifikovat 60 látek terpenické povahy z 6 různých genotypů konopí, přičemž 20 z nich stanovili jako majoritní. Ve výčtu těchto dvaceti majoritních terpenických látek se mimo jiné nacházel limonen, linalool,  $\beta$ -karyofylen,  $\alpha$ -humulen a  $\beta$ -eudesmol, což jsou terpeny popisované i v této práci.

Výsledky ukázaly, že nejvíce zastoupenými terpeny ve zkoumaných genotypech konopí a zároveň v siličnatých rostlinách byly tyto: nejvíce limonen,  $\alpha$ -humulen a dále  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -karyofylen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -eudesmol, linalool a  $\beta$ -pinen. Limonen,  $\alpha$ -humulen,  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -karyofylen se vyskytovaly ve všech zkoumaných genotypech konopí a zároveň měly minimálně jedenkrát potvrzenou koncentraci srovnatelnou s koncentrací v jedné ze siličnatých rostlin, což by mohlo být příčinou zmatení psů při detekci konopí.

U tymiánu byla sledována srovnatelná koncentrace limonenu s jeho koncentrací v SH5, i přesto, že limonen byl v tymiánu i SH5 ze všech zde se vyskytujících terpenů v nejnižší koncentraci. To poukazuje na možnou neexistenci přímé korelace mezi koncentrací dáného terpenu a intenzitou jeho vůně. Tuto skutečnost potvrzuje ve svém výzkumu Svensson (2023). Tymián by si služební psi potencionálně mohli plést s konopím také z důvodu srovnatelné koncentrace  $\beta$ -pinenu v genotypu BB3 a  $\alpha$ -pinenu v genotypu CBD6. V případě genotypu CBD6 byla koncentrace  $\alpha$ -pinenu v něm a v tymiánu opět nejnižší ze všech přítomných terpenů, stejně, jako v případě s limonenem. Toto zjištění podporuje neexistenci korelace mezi koncentrací a intenzitou vůně terpenů.

U šalvěje byla sledována srovnatelná koncentrace  $\alpha$ -humulenu,  $\beta$ -karyofylenu, linaloolu a  $\alpha$ -pinenu a koncentrace těchto terpenů u genotypu SH5. Šalvěj vykázala také srovnatelnou koncentraci  $\beta$ -eudesmolu v genotypech BB3, CBD6 a FF5 a zároveň srovnatelnou koncentraci

$\alpha$ -pinenu v genotypu CBD. Šalvěj má tedy srovnatelnou koncentraci alespoň jednoho terpenu v ní obsaženého se všemi zkoumanými genotypy konopí.

V případě anýzu byla potvrzena srovnatelná koncentrace linaloolu a  $\alpha$ -humulenu s jejich koncentrací v genotypu SH5. Terpenické zastoupení v tymiánu, šalvěji a anýzu se tedy zdá být významné v otázce mechanismu detekce genotypu SH5. Koncentrace terpenů v šalvěji srovnatelné s jejich koncentracemi v genotypech konopí vypovídají o jejím značném potenciálu pro objasnění typů látek, na základě kterých si služební psi konopí při výcviku pletou se silicemi jiných siličnatých rostlin.

Dále byla sledována srovnatelná koncentrace  $\beta$ -myrcenu v kmínu s jeho koncentrací v genotypech CBD a BB3, přičemž Hanuš & Hod (2020) považují  $\beta$ -myrcen za jeden z nejrozšířenějších monoterpenů ve většině genotypů konopí. Toto tvrzení společně s výsledky našeho výzkumu by při výcviku psů mohlo být důvodem chybného vyhodnocení silic kmínu jako konopí.

Sledována byla i srovnatelná koncentrace limonemu v mátě s koncentrací tohoto terpenu v genotypech BB3 a CBD6. Silice máty by tedy mohly služebním psům při výcviku připomínat konopí. Levandule obsahovala množství majoritních terpenů, které se vyskytovaly ve zkoumaných genotypech, nicméně u žádného z nich nebyla sledována srovnatelná koncentrace těchto terpenů. Z toho vyplývá, že levandule pravděpodobně nehraje zásadní roli v mechanismu detekce konopí psy, což se však potvrdí až po porovnání výsledků dat z oboru kynologie.

## 7 Závěr

Závěrem lze říct, že hlavní cíle práce identifikovat a relativně kvantifikovat majoritní účinné látky v pěti genotypech konopí (*Cannabis sativa L.*) a rostlinách s podobným terpenickým profilem byly splněny. První hypotéza, zabývající se otázkou, zda se hlavní terpenické látky v genotypech konopí prokazatelně vyskytují v běžně rostoucích siličnatých rostlinách se potvrdila. Druhá hypotéza o identifikaci konopí služebními psy na základě detekce určité látky terpenické povahy nebo jejich směsi byla taktéž potvrzena.

Lze předpokládat, že psi si při výcviku budou plést konopí s několika siličnatými rostlinami. Nejvíce pravděpodobné bude chybné vyhodnocení u šalvěje kvůli jejímu obsahu  $\alpha$ -pinenu,  $\beta$ -eudesmolu, linaloolu,  $\beta$ -karyofylenu a  $\alpha$ -humulenu. Dále u tymiánu kvůli jeho obsahu  $\alpha$ -pinenu,  $\beta$ -pinenu a limonenu. Dalšími rostlinami, které by mohly psům dělat při tréninku detekce konopí problém je anýz kvůli obsahu linaloolu a  $\alpha$ -humulenu, kmín kvůli obsahu  $\beta$ -myrcenu a máta pro svůj obsah limonenu. Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) nebyl do experimentu zařazen, neboť složení silic chmelu je koponé silici velmi podobný a psi by nebyli schopni pokračovat v experimentu. Další výzkum v oblasti mechanismu detekce konopí služebními psi je žádoucí, protože detekční psi jsou velmi efektivním nástrojem při detekci konopí.

## 9 Literatura

- Álvarez-Martínez FJ, Barrajón-Catalán E, Herranz-López M, Micol V. 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine* **90**:153626.
- Ambrož M, Boušová I, Skarka A, Hanušová V, Králová V, Matoušková P, Szotáková B, Skálová L. 2015. The Influence of Sesquiterpenes from *Myrica rubra* on the Antiproliferative and Pro-Oxidative Effects of Doxorubicin and Its Accumulation in Cancer Cells. *Molecules* **20**(8):15343-15358.
- Ambrož M, Matoušková P, Skarka A, Zajdlová M, Žáková M, Skálová L. 2017. The Effects of Selected Sesquiterpenes from *Myrica rubra* Essential Oil on the Efficacy of Doxorubicin in Sensitive and Resistant Cancer Cell Lines. *Molecules* **22**(6):1021.
- Ambrož M, Šmatová M, Šadibolová M, Pospíšilová E, Hadravská P, Kašparová M, Hanušová Skarková V, Králová V, Skálová L. 2019. Sesquiterpenes  $\alpha$ -humulene and  $\beta$ -caryophyllene oxide enhance the efficacy of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cells. *Acta Pharmaceutica* **69**(1):121-128.
- Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. 2016. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in Plant Science* **7**.
- Astani A, Reichling J, Schnitzler P. 2011. Screening for Antiviral Activities of Isolated Compounds from Essential Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2011**:253643.
- Bautista JL, Yu S, Tian L. 2021. Flavonoids in *Cannabis sativa*: Biosynthesis, Bioactivities, and Biotechnology. *ACS Omega* **6**(8):5119-5123.
- Belackova V, Stefunkova M. 2018. Interpreting the Czech drug decriminalization: The glass is half full – Response to Cerveny, J., Chomynova, P., Mravcik, V., & van Ours, J.C. (2017). Cannabis decriminalization and the age of onset of cannabis use. *International Journal of Drug Policy* **52**:102-105.
- Bilici R. 2014. Synthetic cannabinoids. *Northern Clinics of Istanbul* **1**(2):121-126.
- Bobe G, Zhang Z, Kopp R, Garzotto M, Shannon J, Takata Y. 2020. Phytol and its metabolites phytanic and pristanic acids for risk of cancer: current evodence and future directions. *Eur J Cancer Prev.* **29**(2):191-200.
- Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, Mastinu A. 2018. Cannabis sativa: a comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology* **227**:300-315.
- Brahmkshatriya PP, Brahmkshatriya PS. 2013. Terpenes: Chemistry, Biological Role, and Therapeutic Applications. *Natural Products* 2665-2691.
- Cannon RJ, Kazimierski A, Curto NL, Li J, Trinnaman L, Jańczuk AJ, Agyemang D, Da Costa NC, Chen MZ. 2015. Identification, Synthesis, and Characterization of Novel Sulfur-

Containing Volatile Compounds from the In-Depth Analysis of Lisbon Lemon Peels (*Citrus limon* L. Burm. f. cv. Lisbon). *Journal of agricultural and food chemistry* **63**(7):1915-1931.

Capasso A, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi SF, Rastrelli L. 2016. Cannabinoids for the Treatment of Schizophrenia: An Overview. *Curr Top Med Chem* **16**(17):1916-1923.

Capuzzo A, Maffei ME, Occhipinti A. 2013. Supercritical Fluid Extraction of Plant Flavors and Fragrances. *Molecules* **18**(6):7194-7238.

Carroll CB, Zeissler ML, Hanemann CO, Zajicek JP. 2012.  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) exerts a direct neuroprotective effect in a human cell culture model of Parkinson's disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology* **38**(6):535-547.

Cash MC, Cunnane K, Fan C, Romero-Sandoval EA. 2020. Mapping cannabis potency in medical and recreational programs in the United States. *Plos One* **15**(3):e0230167.

Crocq MA. 2020. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci* **22**(3):223-228.

Dan J, Shengxi J, Jie C. 2019. Cannabis Indoor Growing Conditions, Management Practices, and Post-Harvest Treatment: a Review. *American Journal of Plant Sciences* **10**:6.

Dupal L. 2010. Kniha o marihuaně. 3., dopl. Vyd. Mat'a, Praha.

ElSohly MA, Slade D. 2005. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *LIFE SCIENCES* **78**(5):539-548.

Farag S, Kayser O. 2015. Cultivation and Breeding of *Cannabis sativa* L. for Preparation of Standardized Extracts for Medicinal Purposes. *Medicinal and Aromatic Plants of the World* 165-186.

Farag S, Kayser O. 2017. The *Cannabis* Plant: Botanical Aspects. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies* 3-12.

Franco GRR, Smid S, Viegas C. 2021. Phytocannabinoids: General Aspects and Pharmacological Potential in Neurodegenerative Diseases. *Current Neuropharmacology* **19**(4):449-464.

Francomano F, Caruso A, Barbarossa A, Fazio A, La Torre C, Ceramella J, Mallamaci R, Saturnino C, Iacopetta D, Sinicropi S. 2019.  $\beta$ -Caryophyllene: a Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Applied Sciences*. **9**(24):5420.

Gaggiotti S, Palmieri S, Pelle FD, Sergi M, Cichelli A, Mascini M, Compagnone D. 2020. Piezoelectric peptide-hpDNA based electronic nose for the detection of terpenes; Evaluation of the aroma profile in different *Cannabis sativa* L. (hemp) samples. *Sensors and Actuators B: Chemical* **308**:127697.

González-Mas MC, Rambla JL, López-Gresa MP, Blázquez MA, Granell A. 2019. Volatile compounds in citrus essential oils: a comprehensive review. *Frontiers in Plant Science* **10**:433929.

- Gonzalez-Rivera ML, Barragan-Galvez JC, Gasca-Martínez D, Hidalgo-Figueroa S, Isiordia-Espinoza M, Alonso-Castro AJ. 2023. In Vivo Neuropharmacological Effects of Neophytadiene. *Molecules* **28**(8):3457.
- Gorhe SG, Pawar GR. 2018. a Review on High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *International Journal of Advance Scientific Research and Engineering Trends* **3**(1).
- Graczyk M, Pawlak L, Lewandowska AA. 2023. Is there a place for cannabigerol in symptomatic treatment? *Medycyna Paliatywna-Palliative Medicine* **15**(2):50-58.
- Guo T, et al. 2018. Stilbenoids and cannabinoids from the leaves of *Cannabis sativa f. sativa* with potential reverse cholesterol transport activity. *Food & Function* **9**(12):6608-6617.
- Habtemariam S. 2018. Antidiabetic Potential of Monoterpenes: a Case of Small Molecules Punching above Their Weight. *International Journal of Molecular Sciences* **19**(1):4.
- Hanuš LO, Hod Y. 2020. Terpenes/Terpenoids in *Cannabis*: Are They Important? *Medical Cannabis and Cannabinoids* **3**(1):25-60.
- Hesami M, Pepe M, Jones AMP. 2023. Morphological Characterization of *Cannabis sativa* L. Throughout Its Complete Life Cycle. *Plants* **12**(20):3646.
- Hourfane S, Mechqoq H, Bekkali AY, Rocha JM, El Aouad N. 2023. a Comprehensive Review on *Cannabis sativa* Ethnobotany, Phytochemistry, Molecular Docking and Biological Activities. *Plants (Basel)* **12**(6):1245.
- Chandra S, Lata H, ElSohly MA, Walker LA, Potter D. 2017. Cannabis cultivation: Methodological issues for obtaining medical-grade product. *Epilepsy & Behavior* **70**:302-312.
- Chandra S, Lata H, ElSohly MA. 2020. Propagation of Cannabis for Clinical Research: An Approach Towards a Modern Herbal Medicinal Products Development. *Frontiers in Plant Science* **11**:958.
- Chemat F, Boutekejjiret C. 2015. Extraction/Steam Distillation. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering 1-12.
- Chen H, Yuan J, Hao J, Wen Y, Lv Y, Chen L, Yang X. 2019.  $\alpha$ -Humulene inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and induces apoptosis through the inhibition of Akt signaling. *Food and Chemical Toxicology* **134**:110830.
- Cheng Y, Dong Z, Liu S. 2014.  $\beta$ -Caryophyllene Ameliorates the Alzheimer-Like Phenotype in APP/PS1 Mice through CB2 Receptors Activation and the PPAR $\gamma$  Pathway. *Pharmacology* **94**(1-4):1-12.
- Ibrahim EA. 2019. Analysis of Terpenes in *Cannabis sativa* L. Using GC/MS: Method Development, Validation, and Application. *Planta medica* **85**(05):431-438.
- Islam MT, et al. 2018. Phytol: a review of biomedical activities. *Food and Chemical Toxicology* **121**:82-94.
- Janatová A, Doskočil I, Božík M, Fraňková A, Tlustoš P, Klouček P. 2022. The chemical composition of ethanolic extracts from six genotypes of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.) and their selective cytotoxic activity. *Chemico-Biological Interactions* **353**:109800.

Janefjord E, Mååg JLV, Harvey BS, Smid SD. 2014. Cannabinoid Effects on  $\beta$  Amyloid Fibril and Aggregate Formation, Neuronal and Microglial-Activated Neurotoxicity In Vitro. *Cellular and Molecular Neurobiology* **34**:31-42.

Jikomes N, Zoorob M. 2018. The Cannabinoid Content of Lega Cannabis in Wahington State Varies Systematically Across Testing Facilities and Popular Consumer Products. *Scientific Reports* **8**:4519.

Khan DE, Landwehr O. 2023. „Legalize It!?” – Opportunities and Challenges for the Regulation of Cannabis under European Law. *Eucrim* 89-99.

Khodadadi H, et al. 2021. a potential role for cannabichromene in modulating TRP channels during acute respiratory distress syndrome. *JOURNAL OF CANNABIS RESEARCH* **3**(1).

Kim TH, Yoo SD, Lee HS, Lee KM, Seok SH, Kim MG, Jung BH, Kim MG, Shin BS. 2015. In vivo absorption and disposition of  $\alpha$ -cedrene, a seskviterpene constituent of cedarwood oil, in female and male rats. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* **30**(2):168-173.

Kinghorn AD, Falk H, Gibbons S, Kobayashi J. 2017. *Phytocannabinoids* **103**(62-91).

Klumpers LE, Thacker DL. 2019. a Brief Background on Cannabis: From Plant to Medical Indications. *Journal of AOAC International* **102**(2):412-420.

Kokocińska-Kusiak A, Woszczyło M, Zybalia M, Maciocha J, Barłowska K, Dzięcioł M. 2021. Canine olfaction: physiology, behavior, and possibilities for practical applications. *Animals* **11**(8):2463.

Kopustinskiene MD, Masteikova R, Lazauskas R, Bernatoniene J. 2022. *Cannabis sativa L. Bioactive Compounds and Their Protective Role in Oxidative Stress and Inflammation. Antioxidants (Basel)* **11**(4):660.

Kranz WD, Strange NA, Goodpaster JV. „Fooling fido” –chemical and behavioral studies of pseudo-explosive canine training aids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **406**(30):7817-7825.

Laws JS, Smid SD. 2024. Characterizing cannabis-prevalent terpenes for neuroprotection reveal a role for  $\alpha$  and  $\beta$ -pinenes in mitigating amyloid  $\beta$ -evoked neurotoxicity and aggregation in vitro. *Neurotoxicology* **100**:16-24

Lazarjani MP, Torres S, Hooker T, Fowlie C, Young O, Seyfoddin A. 2020. Methods for quantification of cannabinoids: a narrative review. *Journal of Cannabis Research* **2**:1-10.

Livingston SJ, Quilichini TD, Booth JK, Wong DCJ, Rensing KH, Laflamme-Yonkman J, Castellarin SD, Bohlmann J, Page JE, Samuels AL. 2019. Cannabis glandular trichomes alter morphology and metabolite content during flower maturation. *The Plant Journal* **101**(1):37-56.

Llewellyn D, Golem S, Foley E, Dinka S, Jones AMP, Zheng Y. 2022. Indoor grown cannabis yield increased proportionally with light intensity, but ultraviolet radiation did not affect yield or cannabinoid content. *Frontiers in Plant Science* **13**:974018.

Lowe H, Steele B, Bryant J, Toyang N, Ngwa W. 2021. Non-Cannabinoid Metabolites of *Cannabis sativa L.* with Therapeutic Potential. *Plants* **10**(2):400.

Macias MS, Harper RJ, Furton KG. 2008. a comparison of real versus simulated contraband VOCs for reliable detector dog training utilizing SPME-GC-MS. American Laboratory **40**(1):16.

Mandolino G, Carboni A, Forapani S, Faeti V, Ranalli P. 1999. Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp (*Cannabis sativa L.*). Theoretical and Applied Genetics **98**:86-92.

Masyita A, Sari RM, Astuti AD, Yasir B, Rumata NR, Emran TB, Nainu F, Simal-Gandara J. 2022. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. Food Chemistry X **13**:100217.

Maurya N, Velmurugan BK. 2018. Therapeutic applications of cannabinoids. Chemico-Biological Interactions **293**:77-88.

Meeran MFN, Taee HA, Azimullah S, Tariq S, Adeghate E, Ojha S. 2019.  $\beta$ -Caryophyllene, a natural bicyclic seskviterpene attenuates doxorubicin-induces chronic cardiotoxicity via activation of myocardial cannabinoid type-2 (CB2) receptors in rats. Chemico-Biological Interactions **1**(304):158-167.

Mosquera MEG, et al. 2021. Terpenes and Terpenoids: Building Blocks to Produce Biopolymers. Sustainable Chemistry **2**(3):467-492.

Msengwa Z, et al. 2023. Epifriedelanol is the key compound to antibacterial effects of extracts of *Synadenium glaucescens* (Pax) against medically important bacteria. Frontiers in Tropical Diseases **3**:1104543.

Naikoo GA, Zadegan MS, Pedram MZ, Hassan IU, Ahmed W, Attar GY. 2021. Solubility of vitamin a in supercritical CO<sub>2</sub>: experimental study and thermodynamic modeling. Scientific Reports **11**:(15917).

Ng T, Gupta V, Keshock MC. 2023. Tetrahydrocannabinol (THC). StatPearls Publishing. Treasure Island. PMID: 33085321.

Nguyen CH, Krewenka C, Radad K, Kranner B, Huber A, Duvigneau JC, Miller I, Moldzio R. THC ( $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol) Exerts Neuroprotective Effect in Glutamate-affected Murine Primary Mesencephalic Cultures Through Restoring Mitochondrial Membrane Potential and Anti-apoptosis Involving CB1 Receptor – dependent Mechanism. Phytotherapy Research **30**(12):2044-2052.

Pain S. 2015. A Potted History. Nature **525**:S10-S11.

Palmieri S, Maggio F, Pellegrini M, Ricci A, Serio A, Paparella A, Sterzo CL. 2021. Effect of the Distillation Time on the Chemical Composition, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Different *Cannabis sativa L.* Cultivars. Molecules **26**(16):4770.

Pellati F, Brighenti V, Sperlea J, Marchetti L, Bertelli D, Benvenuti S. 2018. New Methods for the Comprehensive Analysis of Bioactive Compounds in *Cannabis sativa L.* (hemp). Molecules **23**(10):2639.

- Perez-Vazquez A, et al. 2023. Supercritical Fluid Extraction as a Potential Extraction Technique for the Food Industry. *Engineering Proceedings* **37**(1):115.
- Pisanti S, Bifulco M. 2019. Medical Cannabis: a plurimillennial history of an evergreen. *Journal of Cellural Physiology* **234**(6):8342-8351.
- Pisanti S, et al. 2017. Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacology & Therapeutics* **175**:133-150.
- Pollastro F, Caprioglio D, Del Prete D, Rogati F, Minassi A, Taglialatela-Scafati O, Munoz E, Appendino G. 2018. Cannabichromene. *Natural Product Communications* **13**:1189-1194.
- Quiming N, Denola NL, Soliev A, Saito Y, Jinno K. 2007. Retention behavior of ginsenosides on a poly(vinyl alcohol)-bonded stationary phase in hydrophilic interaction chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **389**:1477-1488.
- Radwan MM, Chandra S, Gul S, ElSohly MA. 2021. Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of *Cannabis*. *Molecules* **26**(9):2774.
- Rice S, Koziel JA. Characterizing the Smell of Marijuana by Odor Impact of Volatile Compounds: An Application of Simultaneous Chemical and Sensory Analysis. *Plos One* **10**(12) (e0144160) DOI: 10.1371/journal.pone.0144160.
- Ross S, ElSohly M. 1995. Constituents of *Cannabis sativa* L. XXIII a review of the natural constituents: 1980-1994. *Zagazig Journal of Pharmaceutical Sciences* **4**(1):150-160.
- Russo EB. 2007. History of Cannabis and Its Preparations in Saga, Science, and Sobriet. *Chemistry & Biodiversity* **4**(8):1614-48.
- Russo EB. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effect. *British Journal of Pharmacology* **163**(7):1344-1364.
- Sah P, Chasta P, Sharma G, Chandrul KK. 2021. High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *International Journal of Research in Engineering and Science* **9**(8):23-28.
- Salem MM, Capers J, Rito S, Werbovetz KA. 2011. Antiparasitic aktivity of C-geranyl flavonoids from *Mimulus bigelovii*. *Phytotherapy Research* **25**(8):1246-1249.
- Sghaier MB, Mousslim M, Pagano A, Ammari Y, Luis J, Kovacic H. 2016.  $\beta$ -eudesmol, a seskviterpene from *Teucrium ramosissimum*, inhibits superoxide production, proliferation, adhesion and migration of human tumor cell. *Environmental and Toxicology Pharmacology* **46**:227-233.
- Shevyrin VA, Morzherin YY. 2016. Cannabinoids: structures, effects, and classification. *Russian Chemical Bulletin* **64**:1249-1266.
- Shu H, Zhang W, Yun Y, Chen W, Zhong Q, Hu Y, Chen H, Chen W. 2020. Metabolomics study on revealing the inhibition and metabolic dysregulation in *Pseudomonas fluorescens* induced by 3-carene. *Food Chemistry* **329**:127220.
- Scherma M, Masia P, Deidda M, Fratta W, Tanda G, Fadda P. 2018. New Perspectives on the Use of Cannabis in the Treatment of Psychiatric Disorders. *Medicines (Basel)* **5**(4):107.

Schubert D, Kepchia D, Liang Z, Dargusch R, Goldberg J, Maher P. Efficacy of Cannabinoids in a Pre-Clinical Drug – Screening Platform for Alzheimer’s Disease. *Molecular Neurobiology* **56**:7719-7730.

Simiyu DC, Jang JH, Lee OR. 2022. Understanding Cannabis sativa L.: Current Status of Propagation, Legalization, and Haploid-Inducer-Mediated genetic Engineering. *Plant (Basel)* **11**(9):1236.

Simon A, Lazarowski L, Singletary M, Barrow J, Arsdale KV, Angle T, Waggoner P, Giles K. 2020. a Review of the Types of Training Aids Used for Canine Detection Training. *Frontiers in Veterinary Science* **7**:313.

Singh SK, Shrivastava S, Mishra AK, Kumar D, Pandey VK, Srivastava P, Pradhan B, Behera BC, Bahuguna A, Baek KH. 2023. Friedelin: Structure, Biosynthesis, Extraction, and Its Potential Health Impact. *Molecules* **28**(23):7760.

Siracusa L, Ruberto G, Cristino L. 2023. Recent Research on Cannabis sativa L.: Phytochemistry, New Matrices, Cultivation Techniques, and Recent Updated on Its Brain-Related Effects (2018-2023). *National Library of Medicine* **28**(8):3387.

Small E. 2016. *Cannabis: a Complete Guide*. CRC Press, Boca Raton.

Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. 2020. The Cannabis Terpenes. *Molecules* **25**(24):5792.

Svensson E. 2023. Detection of Marijuana Components Adsorbed on Dust: a Dual Approach of Thermal Desorption GC/MS and Detection Dog Analysis [Independent thesis Advanced level]. School of Engineering Sciences in Chemistry, Biotechnology and Health, Chemistry, Applied Physical Chemistry, Sweden.

Swartz M. 2010. HPLC Detectors: a Brief Review. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **33**(9-12):1130-1150.

Taj T, Sultana R, Shahin H, Chakraborty M, Ahmed MG. 2021. Phytol a phytoconstituent, its chemistry and pharmacological actions. *Gis Science Journal* **8**(1):395-406.

Tarasov P, Bezrukova E, Karabanov E, Nakagawa T, Wagner M, Kulagina N, Letunova P, Abzaeva A, Granoszewski W, Riedel F. 2007. Vegetation and climate dynamics during the Holocene and Eemian interglacials derived from Lake Baikal pollen records. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **252**:440-457.

Tomko AM, Whynot EG, Ellis LD, Dupré DJ. 2020. Anti-Cancer Potential of Cannabinoids, Terpenes, and Flavonoids Present in Cannabis. *Cancers (Basel)* **12**(7):1985.

Turner CE, Elsohly MA, Boeren EG. 1980. Constituents of Cannabis sativa L. XVII. a review of the natural constituents. *Journal of Natural Products* **43**(2):169-234.

Turner D. 2022. GC-MS Principle, Instrument and Analyses and GC-MS/MS. Technology Networks.

Turner SE, Williams CM, Iversen L, Whalley BJ. 2017. Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* **103**.

USDA, NRCS. 2024. The PLANTS Database. National Plant Data Team, Greensboro, NC USA.

Voeks R. 2014. Cannabis: Evolution and Ethnobotany. *The AAG Review of Books* **2**:54.56.

Watt G, Karl T. 2017. In vivo Evidence for Therapeutic Properties of Cannabidiol (CBD) for Alzheimer's Disease. *Frontiers in Pharmacology* **8**.

Wink M. 2020. Potential of DNA intercalating alkaloids and other plant secondary metabolites against SARS-CoV-2 causing COVID-19. *Diversity* **12**(5):175.

Zheljazkov VD, Maggi F. 2021. Valorization of CBD-hemp through distillation to provide essential oil and improved cannabinoids profile. *Scientific Reports* **11**: 19890.

Zheng Y, Llewellyn D. 2022. Lighting and CO<sub>2</sub> in Cannabis Production. *Handbook of Cannabis Production in Controlled Environments* 163-188.

Zheng Z, Fiddes K, Yang L. 2021. a narrative review on environmental impacts of cannabis cultivation. *Journal of Cannabis Research* **3**:35.

Ziyan X, Yaolei M, Lingzhe K, Maolun G, Shanshan C, Weiqiang C, Xiangxiao M, Wei S, Shilin C, Zhichao X. 2023. Cannabis sativa: origin and history, glandular trichome development, and cannabinoid biosynthesis. *Horticulture Research* **10**(9).

## 9.1 Internetové zdroje

- Britannica. 2024. Encyclopedia Britannica. Available from: <https://www.britannica.com/plant/cannabis-plant> (accessed April 2024).
- Greenwood M. 2021. GC-FID Analysis of CBD and THC. AZo Life Sciences. Available from: <https://www.azolifesciences.com/article/GC-FID-Analysis-of-CBD-and-THC.aspx> (accessed April 2024).
- Grinspoon P. 2021. The endocannabinoid system: Essential and mysterious. Harvard Health Publishing, Harvard Medical School. Available from: <https://www.health.harvard.edu/blog/the-endocannabinoid-system-essential-and-mysterious-202108112569> (accessed March 2024).
- Hodova M. 2021. Quizlet. Available from: [https://quizlet.com/user/m\\_hodova/sets](https://quizlet.com/user/m_hodova/sets) (accessed April 2024).
- Hutt D. 2021. Euronews. Available from: <https://www.euronews.com/my-europe/2021/07/16/is-the-czech-republic-on-the-cusp-of-a-cannabis-boom> (accessed April 2024).
- Ordoñez M. 2017. Cannabis Plant Anatomy: Nodes And Internodes. Royal Queen Seeds. Available from: <https://www.royalqueenseeds.com/us/blog-cannabis-plant-anatomy-nodes-and-internodes-n559> (accessed April 2024).
- Ryle S. 2024. leafwell. Available from: <https://leafwell.com/blog/trichomes> (accessed April 2024).
- Vieira I. 2023. Semillas de marihuana. Available from: <https://www.semillas-de-marihuana.com/blog/en/monographic-article-on-cannabis-seeds/> (accessed April 2024).

## 10 Seznam použitých zkratek a symbolů

- UVA – ultrafialové světlo A  
UVB – ultrafialové světlo B  
ECS – endokanabinoidní systém  
CNS – centrální nervová soustava  
FAPPZ – Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů  
ČZU – Česká zemědělská univerzita  
CBD – kanabidiol  
 $\Delta^9$  – THC –  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol  
 $\Delta^8$  – THC –  $\Delta^8$ -tetrahydrokanabinol  
CBG – kanabigerol  
CBC – kanabichromen  
CBN – kanabinol  
AEA – arachidonoylethanolamid  
2-AG – arachidonoyglycerol  
RAPD – randomly amplified polymorphic DNA (polymorfismus náhodně amplifikované DNA)  
LED – light emitting diode (elektroluminiscenční dioda)  
OSN – organizace spojených národů  
CBGA – kyselina kanabigerolová  
CBDA – kyselina kanabidiolová  
THCA-A – kyselina tetrahydrokanabinolová  
THCV – tetrahydrokanabivarin  
CBDV – kanabidivarín  
ARDS – syndrom náhlé respirační tísň  
BAL – biologicky aktivní látky  
SFE – superkritická fluidní extrakce  
GC-MS – plynová chromatografie s hmotnostní detekcí  
GC – plynová chromatografie  
MS – hmotnostní spektrometrie  
HPLC/UV – vysokoučinná kapalinová chromatografie  
 $A\beta$  – amyloid  $\beta$   
t-BHP – terc-butyl hydroperoxid  
PC12 – polodiferencované feochromocytomové buňky  
MIC – nejnižší koncentrace antibiotika inhibující viditelný růst  
EO – esenciální olej  
GC-FID – plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem  
FID – plamenový ionizační detektor  
RCF – relativní odstředivá síla

## 11 Seznam obrázků a tabulek

### Obrázky

Obrázek 1: Cannabis v několika starobylých jazycích

Obrázek 2: stonek konopí

Obrázek 3: semena konopí

Obrázek 4: samčí květ (A); samičí květ (B)

Obrázek 5: list konopí

Obrázek 6: fáze vývoje rostliny konopí (a, b – formování výhonku; c, d – zakořenění, e, f – juvenilní fáze; g – vegetativní fáze; h – fáze kvetení)

Obrázek 7: indoorové pěstování konopí ve skleníku

Obrázek 8: outdoorové pěstování konopí na poli

Obrázek 9: glandulární trichomy

Obrázek 10: strukturní vzorec AEA (25); 2-AG (26)

Obrázek 11: schéma fungování endokanabinoidů

Obrázek 12: strukturní vzorec  $\Delta^9$  – THC

Obrázek 13: strukturní vzorec CBD

Obrázek 14: strukturní vzorec CBG (R=H: CBG)

Obrázek 15: strukturní vzorec CBC (R=H: CBC)

Obrázek 16: strukturní vzorec CBN (Me = methyl)

Obrázek 17: strukturní vzorec  $\Delta^8$  – THC (Me = methyl)

Obrázek 18: typy terpenů a počet jejich izoprenových jednotek

Obrázek 19: strukturní vzorec  $\alpha$ -pinenu (vlevo);  $\beta$ -pinenu (vpravo)

Obrázek 20: strukturní vzorec  $\beta$ -myrcenu

Obrázek 21: strukturní vzorec  $\Delta^3$ -karenu

Obrázek 22: strukturní vzorec  $\alpha$ -terpinenu (vlevo)  $\gamma$ -terpinenu (vpravo)

Obrázek 23: strukturní vzorec limonenu

Obrázek 24: strukturní vzorec geraniolu

Obrázek 25: strukturní vzorec linaloolu

Obrázek 26: strukturní vzorec  $\beta$ -aryofylenu (vlevo);  $\beta$ -karyofylen oxidu (vpravo)

Obrázek 27: strukturní vzorec  $\alpha$ -humulenu

Obrázek 28: strukturní vzorec nerolidolu

Obrázek 29: strukturní vzorec  $\alpha$ -cedrenu

Obrázek 30: strukturní vzorec  $\beta$ -eudesmolu

Obrázek 31: strukturní vzorec fytolu

Obrázek 32: strukturní vzorec neofytadienu

Obrázek 33: strukturní vzorec friedelinu (vlevo); epifriedelanolu (vpravo)

Obrázek 34: příklad výstupu z celkového intového chromatogramu z GC-MS (osa x = retenční čas; osa y = relativní absorbance)

Obrázek 35: oscilační kulový mlýn MM 200 s ampulemi se vzorky

Obrázek 36: vialky se vzorky připravenými k analýze

Obrázek 37: destilační aparatura se vzorky genotypů konopí

Obrázek 38: vialky s vydestilovanými silicemi

## **Tabulky**

Tabulka 1: analyzované genotypy konopí a jejich charakteristika

Tabulka 2: parametry pro GC-FID analýzu terpenických látek

Tabulka 3: obsah kanabinoidů v jednotlivých genotypech konopí ( $\mu\text{g/g}$ )

Tabulka 4: obsah terpenických látek v jednotlivých genotypech konopí ( $\mu\text{g/g}$ )

Tabulka 5 - obsah terpenických látek v jednotlivých siličnatých rostlinách ( $\mu\text{g/g}$ ) – červeně zvýrazněné indexy shodných látek poukazují na srovnatelné množství terpenu v siličnaté rostlině a určitém genotypu

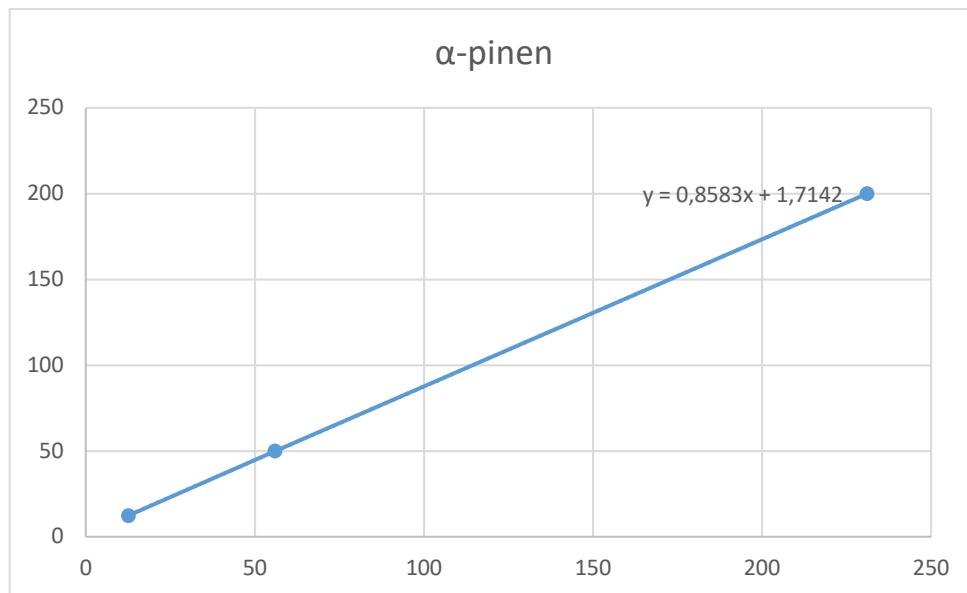
## **Grafy**

Graf 1: kalibrační křivka standardu  $\alpha$ -pinenu

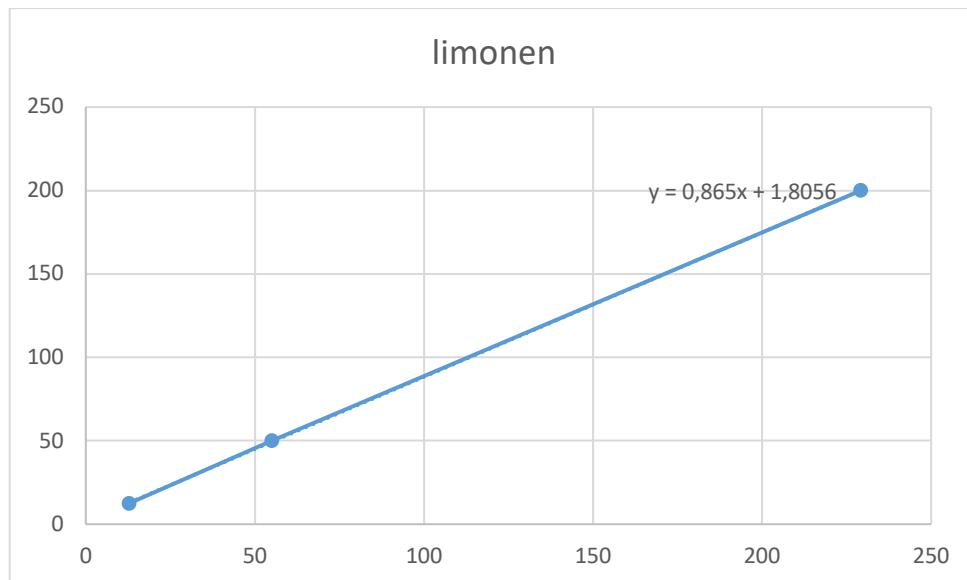
Graf 2: kalibrační křivka standardu limonenu

## 12 Samostatné přílohy

Příklady kalibračních křivek standardů terpenů, ze kterých byl po dosazení plochy píku daného terpenu do rovnice kalibrační křivky vypočítán jeho obsah v dané siličnaté rostlině či genotypu konopí.



Graf 1 - kalibrační křivka standardu  $\alpha$ -pinenu



Graf 2 - kalibrační křivka standardu limonenu