

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Obsah a dynamika terpenických látek v léčebném konopí (*Cannabis sativa* L.) v závislosti na termínu sklizně a výživě rostlin

Diplomová práce

Bc. Barbora Žáková

Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů

Ing. Anežka Janatová, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Obsah a dynamika terpenických látek v léčebném konopí (*Cannabis sativa* L.) v závislosti na termínu sklizně a výživě rostlin" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.04.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí své diplomové práce Ing. Anežce Janatové, Ph.D. za velmi užitečné rady při tvorbě této diplomové práce. Děkuji také za její trpělivost a ochotu udělat si na mě čas kdykoli jsem potřebovala radu. Poděkování patří také Ing. Matěji Malíkovi za uvedení do problematiky výživy a pěstování konopí. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za podporu v průběhu celého studia.

Obsah a dynamika terpenických látek v léčebném konopí (*Cannabis sativa* L.) v závislosti na termínu sklizně a výživě rostlin

Souhrn

Konopí je jednou z nejstarších pěstovaných rostlin, již od pradávna využívaných k léčebným účelům. V posledních letech bylo publikováno mnoho studií, které se věnovali bližšímu zkoumání terpenických látek jejich potenciálnímu využití v lékařství.

Diplomová práce byla zaměřena na přiblížení problematiky terpenických látek a vlivu výživy a termínu sklizně na jejich obsah v konopí. Byly porovnány koncentrace terpenů a terpenoidů v sušeném květenství konopí pěstovaného za využití čtyř typů hydroponického živného roztoku. První typ výživy obsahoval pouze základní bio minerální hnojiva. V druhém typu bylo přidáno aditivum na bázi aminokyselin obohacené o dusík. Ve třetím typu bylo k základním hnojivům přidáno aditivum obsahující mix draslíku, fosforu, vitaminů, stopových prvků a aminokyselin podporující tvorbu cukrů. A ve čtvrtém typu výživy byla obsažena obě aditiva. Identifikovali jsme celkem 13 terpenů/terpenoidů jejichž obsah se pohyboval v hodnotách 0,073-3,122 mg/g sušeného květenství. U většiny identifikovaných terpenů a terpenoidů vykazovalo nejvyšší koncentrace konopí pěstované s využitím třetího a čtvrtého typu výživy. Některé terpenické látky (α -bisabolol a farnesol) byly v těchto typech výživy kvantifikovány jen v malém množství nebo nebyly vůbec detekovány.

Sklizeň probíhala od 7. do 11. týdne generativní fáze. U většiny terpenických látek nebyl pozorován významný rozdíl v jejich koncentraci v závislosti na termínu sklizně. Výjimkou byl pouze β -karyofylen, α -humulen a nerolidol, kde byly rozdíly pozorovány u osmého a devátého týdne sklizně.

Potvrdili jsme pozitivní vliv použití různých aditiv při hydroponickém pěstování, což může být podnětem pro další studie věnující se tomuto tématu. Je potřebné tuto problematiku prozkoumat podrobněji, aby bylo zjištěno, které látky mají největší vliv na zvýšení obsahu terpenických látek a mohla tak být určena ta nejvhodnější aditiva.

Klíčová slova: léčebné konopí, terpeny/terpenoidy, výživa rostlin, plynová chromatografie, termín sklizně

Content and dynamics of terpenoides in medical cannabis (*Cannabis sativa* L.) depending on the date of harvest and plant nutrition

Summary

Cannabis is one of the oldest cultivated plants, used for therapeutic purposes since ancient times. In recent years, many studies have been published that have looked closely at terpenic substances for their potential use in medicine.

The thesis was aimed at approximating the issue of terpenic substances and the influence of nutrition and the date of harvest on their content in cannabis. The concentrations of terpenes and terpenoids in the dried inflorescence of cannabis grown using four types of hydroponic nutrient solution were compared. The first type of nutrition contained only basic biomineral fertilizers. In the second type, an amino acid-based additive enriched with nitrogen was added. In the third type, an additive containing a mix of potassium, phosphorus, vitamins, trace elements and amino acids was added to the basic fertilizers to promote the formation of sugars. And in the fourth type of nutrition, both additives were included. We identified a total of 13 terpenes/terpenoids whose content ranged from 0.073-3.122 mg/g of dried inflorescence. For most of the terpenes and terpenoids identified, the highest concentrations were found in hemp grown using the third and fourth types of nutrition. Some terpenic substances (α -bisabolol and farnesol) were quantified in these types of nutrition only in small amounts or were not detected at all.

Harvesting took place from week 7 to week 11 of the generative phase. For most terpenic substances, no significant difference in their concentration was observed depending on the date of harvest. The only exceptions were β -caryophyllene, α -humulene and nerolidol, where differences were observed in the eighth and ninth weeks of harvest.

We have confirmed the positive effect of the use of different additives in hydroponic cultivation, which may be an incentive for further studies on this topic. This issue needs to be explored in more detail to determine which substances have the greatest effect on increasing the terpenic content and thus to determine the most appropriate additives.

Keywords: medical cannabis, terpenes/terpenoids, plant nutrition, gas chromatography, harvest date

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	10
3	Literární rešerše	11
3.1	Botanická charakteristika konopí	11
3.1.1	Taxonomie.....	11
3.1.2	Morfologie.....	11
3.2	Historie léčebného konopí	12
3.3	Využití léčebného konopí v současnosti	13
3.3.1	Endokanabinoidní systém.....	13
3.3.2	Indikace léčebného konopí	14
3.4	Legislativa	16
3.4.1	Legislativa v České republice.....	16
3.4.2	Legislativa ve světě	17
3.5	Pěstování léčebného konopí.....	17
3.5.1	Pěstební podmínky	18
3.5.2	Typy pěstebních systémů	18
3.5.3	Škůdci a choroby	20
3.5.4	Výživa rostlin	21
3.6	Zpracování konopí	21
3.6.1	Sklizeň, sušení, homogenizace.....	21
3.7	Biologicky aktivní látky v konopí	22
3.7.1	Terpenické látky	22
3.7.1.1	Monoterpeny.....	23
3.7.1.2	Seskviterpeny	27
3.7.2	Kanabinoidní látky	30
3.7.3	Ostatní látky v konopí	32
3.7.4	Entourage efekt.....	32
3.8	Metody stanovování obsahových látek.....	32
4	Metodika	33
4.1	Pěstování rostlin léčebného konopí	33
4.1.1	Výchozí materiál a pěstební podmínky	33
4.1.2	Výživa rostlin	33
4.2	Zpracování rostlin léčebného konopí.....	35
4.2.1	Sklizeň, sušení a homogenizace	35
4.2.2	Příprava extraktů	35
4.3	Identifikace a kvantifikace terpenů v léčebném konopí.....	35
4.4	Statistické vyhodnocení výsledků	36

5	Výsledky	36
5.1	Výživa	37
5.2	Termín sklizně	37
5.3	Terpenické látky	37
6	Diskuze	40
6.1	Výživa	40
6.2	Termín sklizně	41
6.3	Terpenické látky	41
7	Závěr	43
8	Literatura.....	44
9	Seznam a použité zdroje obrázků a tabulek.....	50

1 Úvod

Konopí je velmi rozšířenou rostlinou, pěstovanou po celém světě již po staletí. Je známe jako technická rostlina využívaná k výrobě konopných vláken na výrobu látek nebo lan, ale také jako nutričně hodnotná potravinu. Záznamy o jeho využití jako léku se objevují již před našim letopočtem v Číně a Indii.

Konopí obsahuje rozmanitou škálu biologicky aktivních látek. Od dob objevu hlavních složek konopí, zejména dvou hlavních kanabinoidů (CBD a Δ^9 -THC) je užívání konopí jako léčebného přípravku opět na vzestupu.

Dlouhá léta bylo po celém světě konopí kriminalizováno, zejména kvůli psychoaktivní povaze jedné ze svých hlavních složek (Δ^9 -THC), pro kterou je hojně rekreačně využíváno. S přibývajícými vědeckými studii o pozitivních účincích léčebného konopí na lidské zdraví začalo velké množství zemí po celém světě zmírňovat pravidla pro jeho užívání a uvádět výjimky v legislativě. V dnešní době můžeme i v České republice získat předpis na léčebné konopí a různé přípravky z něj vyráběné a zcela legálně si jej vyzvednout v lékárně.

Konopí pro léčebné použití je nutné pěstovat ve striktně řízených podmínkách ve vnitřních prostorách. Je tedy nutné zajistit rostlinám dostatek umělého světla, přísun kyslíku i oxidu uhličitého a vody. Tento proces pěstování v takzvaných „indoor“ podmínkách, který trvá až 120 dnů je ekonomicky vysoce náročný. Určení vhodného týdne pro sklizeň s ohledem na co nejvyšší obsah aktivních látek je tedy nezbytný pro co nejekonomičtější způsob pěstování, při kterém nebude snížen celkový výnos ani biologická hodnota vypěstovaného materiálu.

Na trhu nyní nalezneme nepřehledné množství hnojiv a různých aditiv, které slibují velké výnosy a kvalitní výsledky pěstování. Tyto aditiva se pohybují v různých cenových relacích, a tak mohou být pro pěstitele další finančně náročnou položkou. Otázkou však zůstává, zda jsou rostliny konopí schopné tato aditiva správně využít a zda má jejich přidání do živného roztoku vliv na obsah biologicky aktivních látek přirozeně se v konopí vyskytujících.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této diplomové práce je stanovit optimální termín sklizně a vhodnou výživu na základě zjištěných obsahů terpenických látek v sušeném květenství léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.).

První hypotézou je, že nejvyšší obsah terpenických látek je v 7. – 9. týdnu generativní fáze. Na základě analýz bude možné toto rozmezí pro vybranou odrůdu co nejvíce upřesnit.

Druhou hypotézou je, že obsah a složení terpenických látek v konopí lze ovlivnit přidáním různých aditiv do živného roztoku v hydroponickém pěstebním systému.

3 Literární rešerše

3.1 Botanická charakteristika konopí

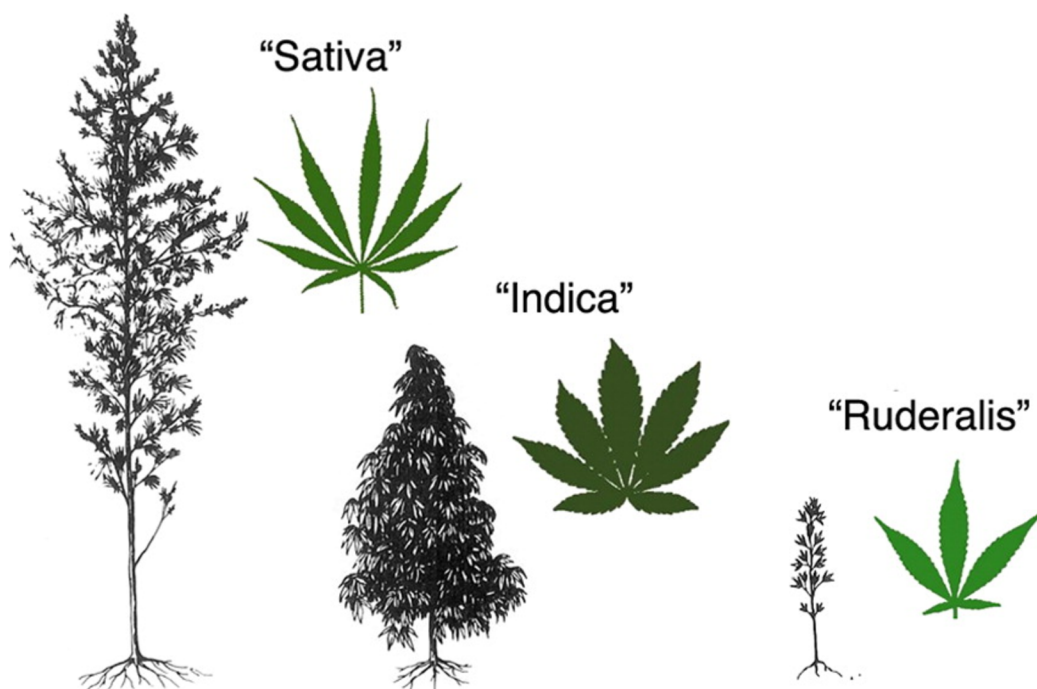
3.1.1 Taxonomie

Konopí společně s významným rodem *Humulus* a dalšími osmi rody mezi jednoleté dvouděložné rostliny k jejichž opylování dochází větrem. Tyto krytosemenné rostliny řadíme do řádu *Rosales* (Růžotvaré), konkrétně do čeledi *Cannabaceae* (Konopovité). Tento, dnes již běžně používaný název vytvořil Martynov a oddělil do této čeledi původně pouze rod *Humulus* a *Cannabis*. Teprve v druhé polovině 20. století se tato čeleď začala běžně používat. Osm rodů později přiřazených do čeledi *Cannabaceae* bylo původně řazeno do čeledi *Celtidaceae* a jedná se o tyto rody: *Celtis*, *Pteroceltis*, *Aphananthe*, *Chaetachme*, *Gironniera*, *Lozanella*, *Trema* a *Parasponia* (McPartland 2018).

Názory na dělení konopí nejsou jednotné, avšak nejčastěji se objevuje ten názor, že existuje jeden druh konopí, *Cannabis Sativa* L., a jeho tři poddruhy: konopí seté (*C. sativa* ssp. *sativa*), konopí indické (*C. sativa* ssp. *indica*) a konopí rumištní (*C. sativa* ssp. *ruderalis*) (Casano et al., 2011).

3.1.2 Morfologie

Konopí má rozvětvený kulový kořen s mnoha postranními kořínky. Jeho stonek typu lodyha je rozvětvený, hranatý, brázditý a dutý v internodiích. Dosahuje výšky 1-6 metrů. Listy jsou dlanité a jejich velikost a tvar se odlišuje v závislosti na poddruhu. Okraje listů jsou hrubě vroubkované. Uspořádání listů na stonku je buď vstřícné nebo střídavé. Konopí patří mezi dvoudomé rostliny, rozlišujeme tedy samčí a samičí rostliny. Mohou se však vyskytovat i hermafroditní nebo androgenní jedinci. Květenství je složené z četných květních hlávek. Samčí květy jsou uspořádány do lat a samičí květy jsou úžlabní. Plodem je nažka s jediným semenem (Adams 2012; Farag & Kayser 2017).



Obrázek 1: Rozdíly ve stavbě rostliny (McPartland 2018).

3.2 Historie léčebného konopí

Cannabis Sativa (konopí seté) je jednou z nejstarších, člověkem pěstovanou rostlinou. První důkazy o užívání konopí byly nalezeny v Číně, kde se tato rostlina pěstovala pro výrobu vláken, které byly získávány z konopných stonků. Z těchto vláken se vyráběly například textilie a papír, které byly nalezeny v hrobce císaře Wu z dynastie Han (104-87 př. n. l.). Byly také nalezeny důkazy, že za dynastie Han byla konopná semena užívána jako potravina (Li 1974).

První zmínky o užívání konopí jako léku starými Číňany se objevují v nejstarším lékopise na světě Pen-Tsao Ching. Ačkoli byl sestaven v prvním století našeho letopočtu, vycházel z ústního podání předávaného od dob císaře Šen-nunga, který žil v letech 2700 př. n. l. V této době bylo užívání konopí doporučováno na revmatické bolesti, střevní zácpu, poruchy ženského reprodukčního systému nebo na malárii. Směs rostliny užívané s vínem se používala také k anestezii při chirurgických operacích. K těmto a mnoho dalším léčebným účelům používali Číňané především semena rostliny (Li 1974; Touw 1981).

V Indii se konopí pro léčebné účely začalo využívat kolem roku 1000 př. n. l. Využívalo se především jako analgetikum, antibiotikum, antikonvulzivum nebo proti zánětům. Atharva Věda označuje konopí jako jednu z pěti posvátných rostlin a popisuje ho jako zdroj štěstí, dárce radosti a nositele svobody (Touw 1981; Miovský & kolektiv 2008).

Postupem času se konopí šířilo dál do celého světa. Z Indie se postupně rozšířilo také na Blízký východ, do Afriky a Arábie. V Africe je konopí známo přinejmenším od 15. století a bylo využíváno při hadím uštknutí, malárii nebo úplavici. V 16. století se semena dostala do Brazílie a započalo využívání konopí pro léčebné účely také v Jižní Americe. V Evropě bylo v této době konopí pěstováno výhradně na vlákna (Zuardi 2006).

Léčebné využití konopí bylo západní medicíně poprvé představeno v roce 1839, kdy irský lékař William O'Shaughnessy publikoval knihu s názvem *On the preparations of Indian hemp, or gunjah*. Ve svém životě O'Shaughnessy studoval již existující literaturu o konopí a radil se

se staršími lidmi a léčiteli. Ve své knize pak popisuje různé úspěšné pokusy na lidech, při nichž se konopné přípravky používaly na revmatismus, křeče, a hlavně svalové křeče při tetanu a vzteklině. Tyto lékařské úspěchy, po nichž následovaly výsledky i dalších lékařů, vedly k rychlému rozšíření konopí v medicíně v Evropě i v Severní Americe (Hand et al. 2016). V roce 1860 se v Americe konala první klinická konference o konopí, kterou uspořádala Státní lékařská společnost v Ohio. Bylo zde informováno o úspěšném použití konopí při léčbě mnoha onemocnění (Zuardi 2006; Hand et al. 2016).

Dalším zlomovým obdobím v historii léčebného konopí je také první polovina 20. století, kdy se podařilo objevit chemickou strukturu hlavních účinných látek (CBD a Δ^9 -THC). Kolem roku 1950 čeští vědci Jan Kabelík, Zdeněk Krejčí a František Šantovský narazili při svých výzkumech na konopí. To začali společně podrobněji studovat a roku 1955 z něj úspěšně izolovali první kanabinoidní kyselinu – kyselinu kanabidiolovou. V prosinci roku 1954 se v Olomouci uskutečnila vědecká konference vysokých škol, kde svojí práci na téma Konopí jako lék prezentovali. V roce 1963 byla zaslána k publikaci práce Františka Šantovského, ve které je popsána správná poloha dvojnásobné vazby v terpenickém cyklu kanabidiolu (CBD), kyseliny kanabidiolové (CBDA) a delta-9-tetrahydrokanabinolu (Δ^9 -THC) a také jejich absolutní konfigurace. Tato práce byla vydána roku 1964 (Hanus 2012).

Roku 1961 přijala Organizace spojených národů (OSN) Jednotnou úmluvu o omamných látkách, kde jsou obsaženy základní seznamy omamných a psychotropních látek. Smluvní státy pak tyto seznamy přejímají do vlastních vnitrostátních právních předpisů a stanovují tak pravidla pro nakládání s konopím a konopnými látkami (Miovský & kolektiv 2008; Zeman 2012).

Dalším významným objevem byl objev anandamidu. Jedná se o endogenní látku, která se váže na kanabinoidní receptory. Výraz ananda neboli vnitřní štěstí pochází ze sanskrtu. Tento objev uvedli do povědomí roku 1992 Lumír Ondřej Hanuš a William Devane. Tyto objevy začaly pomalu měnit pohled celé společnosti na využití konopí k lékařským účelům (Hanus 2012).

3.3 Využití léčebného konopí v současnosti

Teprve v tomto století začínáme konečně chápat přesné farmakologické mechanismy, které jsou základem účinků konopí a jemu příbuzných preparátů. Z většiny lze tyto mechanismy vysvětlit prostřednictvím endokanabinoidního systému (Russo & Marcu 2017).

3.3.1 Endokanabinoidní systém

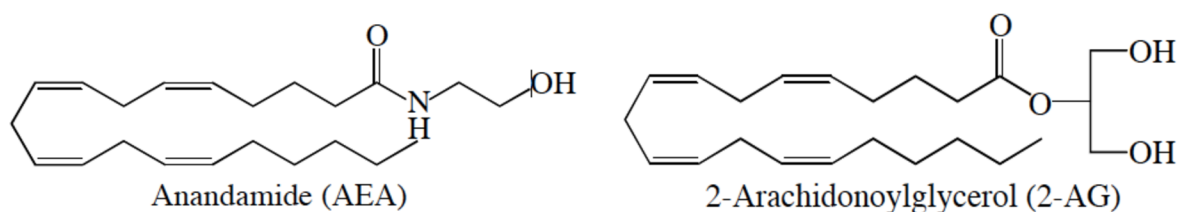
Endokanabinoidní systém se skládá z endogenních kanabinoidů, kanabinoidních receptorů a proteinů, které přenášejí, syntetizují a odbourávají endokanabinoidy. Endokanabinoidní systém není samostatný izolovaný systém, ale ovlivňuje mnoho dalších signálních drah a je jimi ovlivňován (Lu & Mackie 2021). Primárním účelem endokanabinoidního systému je zajištění homeostázy pro mnoho metabolických funkcí. Endokanabinoidní systém se objevil jako jeden z klíčových regulačních mechanismů v mozku, který řídí různé události, jako je mimo jiné nálada, vnímání bolesti, učení a paměť. Nachází se po celém těle a skládá se ze specifických kanabinoidních receptorů. Kanabinoidní receptory

jsou receptory spřažené s G-proteinem, které jsou aktivovány třemi hlavními skupinami ligandů: endokanabinoidy produkovanými tělem, kanabinoidy vyráběnými z rostlin konopí a syntetickými kanabinoidy (Kendall & Yudowski 2017; Jarvis et al. 2017). Rozlišujeme dva typy kanabinoidních receptorů: CB1 a CB2. Rozdíl mezi nimi spočívá v aminokyselinovém složení transmembránového peptidu a místech exprese v těle. Receptor CB1 charakterizovali Devane et. al již v roce 1988 v mozku potkanů a lidí (Kendall & Yudowski 2017; Zielonka et al. 2020; Crocq 2020). Identifikace receptorů CB1 a CB2 vedla k izolaci dvou hlavních endokanabinoidů: anandamidu a 2-arachidonoylglycerolu (De Petrocellis et al. 2011).

Receptory CB1 se nacházejí ve velké míře v centrální nervové soustavě (CNS). Najdeme je ale také v tukové tkáni, kůži a trávicích orgánech, včetně slinivky břišní, jater, tenkého a tlustého střeva. V bazálních gangliích a hypotalamu se nacházejí receptory CB1, které po stimulaci pomáhají regulovat chuť k jídlu a žaludeční motilitu. Tyto žaludeční účinky vedly k vývoji dronabinolu, léku používaného k léčbě anorexie a příznaků nevolnosti souvisejících s rakovinou. Receptory CB1 jsou také indikovány u mnoha poruch, které ovlivňují CNS, včetně několika neurodegenerativních poruch jako je Huntingova choroba, roztroušená skleróza a Alzheimerova choroba (Kendall & Yudowski 2017).

CB2 receptory se nacházejí v mnoha oblastech těla a na rozdíl od CB1 nemají při stimulaci psychoaktivní účinky. Většina z nich se nachází podél páteře nebo v kostní dřeni. CB2 převažují v leukocytech a zdají se být klíčovými mediátory kanabinoidní regulace imunitního systému (Jarvis et al. 2017; Lu & Mackie 2021).

Oba tyto typy receptorů hrají roli v modulaci drah bolesti a pomáhají poskytovat analgezi. Ve výzkumu dráhy nádorové bolesti působí kanabinoidy jako analgetika u pacientů s neuropatickou bolestí a jsou antihyperalgické. Existují také domněnky, že kanabinoidy mohou zesilovat analgetické vlastnosti morfinu a pomáhat přecházet toleranci léku (Jarvis et al. 2017).



Obrázek 2: Chemická struktura dvou hlavních endokanabinoidů (Di Marzo et al. 2002).

3.3.2 Indikace léčebného konopí

Dle vyhlášky 236/2015 Sb. je jasně stanoven seznam indikací, na které lze od lékaře získat předpis na léčiva obsahující konopí. Předpis může vydat pouze lékař se specializovanou působností. Za rok 2021 bylo v České republice vystaveno celkem 19441 receptů a vydáno 109401,32 g léčebného konopí. Nejvíce gramů bylo vydáno na léčbu roztroušené sklerózy a na pomoc při chronicky nezišitelných bolestí (SAKL 2021).

Tabulka 1: Seznam indikací a specializovaných způsobilostí lékařů pro předepisování konopí k léčebným účelům (SÚKL 2010).

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

3.4 Legislativa

3.4.1 Legislativa v České republice

V České republice je několik zákonů, které se týkají pěstování a užívání léčebného konopí. Taktéž musíme zmínit zákony o evidenci, předepisování a dalších úkonech týkajících se léčebného konopí.

Jako první zde musíme uvést zákon, který vstoupil v platnost v lednu roku 2022. Jedná se o zákon č. 366/2021 Sb. díky, kterému došlo ke zmírnění podmínek pro získání licence na pěstování léčebného konopí a umožnění vývozu do zahraničí. Zákon č. 366/2021 Sb., kterým se mění zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. V tomto zákoně jsou uvedeny informace o konopí pro léčebné účely, jeho pěstování a taktéž informace týkající se licencí pro pěstování léčebného konopí (Poslanecká sněmovna Parlamentu 2021)

Vyhláška č. 522/2021 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 329/2019 Sb., o předepisování léčivých přípravků při poskytování zdravotních služeb, ve znění vyhlášky č. 53/2020 Sb. Tato vyhláška se týká předepisování léčivých přípravků, včetně přípravků obsahujících konopí (Ministerstvo zdravotnictví 2021).

Další neméně podstatnou vyhláškou je Vyhláška č. 307/2020, kterou se mění vyhláška č. 236/2015 Sb., o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Zde jsou uvedeny druhy konopí pro léčebné použití, informace o značení, předepisování, přípravě a výdeji konopí pro lékařské účely (Ministerstvo zdravotnictví a Ministerstvo zemědělství 2020).

Dle statistik Státní agentury pro konopí pro léčebné použití je k 31.12.2021 v České republice 191 lékařů, kteří splňují požadavky všech souvisejících zákonných předpisů a mohou předepisovat konopí pro léčebné použití pacientům s indikacemi, které jsou rovněž dány zákonem. Ke dni 26.4.2021 je v ČR evidováno 96 lékáren, které mohou objednat v Česku vypěstované konopí od smluvního distributora Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL), kterým je společnost Alliance Healthcare s. r. o. SÚKL momentálně vykupuje léčebné konopí pouze od jednoho pěstitele a tím je společnost Elkoplast Slušovice, s.r.o. Vzhledem k tomu, že v roce 2022 došlo ke zmírnění podmínek pro získání licence, budou mít i další subjekty větší šanci licenci získat a pěstovat rostliny na výrobu léčivých přípravků s obsahem konopí. Mohlo by tím dojít ke zvýšení konkurence a snížení ceny léčivých konopných přípravků na trhu. Dle zákona je možné k léčebnému použití používat druhy konopí, které jsou uvedeny v tabulce 2. (SAKL 2022, SÚKL 2010)

Tabulka 2: Druhy konopí, které lze využít v České republice k léčebným účelům a množství povolených obsahových látek (SAKL 2022).

Povinně uváděný údaj	Charakteristika/přípustné hodnoty
Druh konopí	<i>Cannabis indica</i> L. nebo <i>Cannabis sativa</i> L.
Obsah delta-9-tetrahydrocannabiolu	0,3 % - 21,0 %. Faktický obsah se nesmí odchýlit o více než ± 20 % uváděné hodnoty pěstitelem.
Obsah CBD	0,1 % - 19,0 %. Faktický obsah se nesmí odchýlit o více než ± 20 % uváděné hodnoty pěstitelem.

3.4.2 Legislativa ve světě

Legislativa týkající se léčebného konopí se v různých zemích světa různí. V této kapitole si tedy stručně shrneme některé z nich.

Ke konci roku 2019 bylo konopí pro léčebné účely legální v 26 zemích Evropy z toho 20 zemí bylo součástí Evropské unie (EU), mezi tyto země patří kromě České republiky např. Německo, Itálie, Malta, Portugalsko, Dánsko a Finsko (Landa et al. 2020).

V USA je užívání léčebného konopí legální ve 44 federálních státech a v hlavním městě Washingtonu (Landa et al. 2020).

Australská federální vláda legalizovala přístup k léčebnému konopí v roce 2016. Nyní je v Austrálii možné předepsat více než 100 různých konopných přípravků. Většina z nich jsou kapsle nebo oleje, ale k dispozici jsou i produkty ze sušených květů. Vzhledem k tomu, že většina těchto přípravků nejsou schválenými léčivy, vyžaduje jejich předepisování schválení v rámci Authorised Prescriber Scheme nebo Therapeutic Goods Administration Special Access Scheme-B. Většina předpisů vydaných v roce 2019 se týká úzkosti, epilepsie, chronické bolesti, symptomů souvisejících s rakovinou a dalších neurologických poruch (Arnold et al. 2020).

V Africe je v mnoha zemích užíváno konopí jako nelegální droga. Jeho potenciální léčebné využití je však často opomíjeno a všeobecně vládne strach, že s legalizací konopí pro léčebné účely by se mohlo normalizovat a zvýšit jeho rekreační užívání. I přesto došlo v některých afrických zemích k legalizaci konopí pro léčebné použití. Mezi tyto země patří Malawi, Zambie, Jižní Afrika, Zimbabwe, Lesotho, Ghana a Rwanda. V Ugandě bylo léčebné konopí legalizováno výhradně pro vývoz (Adebisi & Olaoye 2022).

3.5 Pěstování léčebného konopí

Konopí je velmi přizpůsobivá rostlina, kterou lze pěstovat v různých podmínkách. Ať už ve venkovních podmínkách v tropickém nebo mírném prostředí, tak v kontrolovaném prostředí od základních skleníkových struktur až po různá zařízení s kontrolovaným prostředím. Výběr prostředí, ve kterém se rostlina pěstuje, se řídí konečným využitím rostliny. Pro splnění přísných zdravotních a bezpečnostních předpisů, které musí léčebné konopí splňovat, je vhodnější jej pěstovat ve vnitřních kontrolovaných systémech. Kontrolované vnitřní prostředí také umožňuje snadnější regulaci škůdců a chorob. Díky podmínkám vnitřního pěstování je

také možné pěstovat konopí celoročně a uskutečnit několik pěstebních cyklů za rok (Monthony et al. 2021; Crispim Massuela et al. 2022).

Konopí pro léčebné účely se pěstuje technikou, při které se sklízají pouze neoplozené samičí květy. Semena je potřeba získávat z certifikovaných zdrojů, kde jsou speciálně vyšlechtěna tak, aby produkovala pouze samičí květy (Zuk-Golaszewska & Golaszewski 2018).

3.5.1 Pěstební podmínky

Pro pěstování konopí ve vnitřních prostorech je důležité zajistit rostlině vyhovující podmínky. Aby se rostlině dařilo je potřeba neopomenout všechny důležité faktory, které ke svému růstu potřebuje. Mezi tyto faktory patří světlo, teplota, relativní vlhkost, cirkulace vzduchu, hladina oxidu uhličitého a zdroj vody (Adams 2012; Chandra et al. 2020).

Osvětlení

Mezi důležité aspekty vhodného osvětlení řadíme intenzitu světla, světelné spektrum a fotoperiodu. Proto je nutné vybrat vhodný druh umělého osvětlení. Intenzita světla ovlivňuje růst, objem a kvalitu úrody. Pro rostliny je důležité tzv. fotosynteticky aktivní záření, které se pohybuje v rozmezí 400-700 nm (nanometrů). V době růstu je nejvhodnější modré spektrum (420–450 nm) a v době kvetení spektrum červené (600–700 nm).

Fotoperiodismus, je vývojová reakce rostlin na denní délku světla a tmy a je založen na schopnosti rostliny vnímat uplynulý čas od východu nebo západu slunce a regulovat procesy v rostlinách v závislosti na denní době a délce dne (Danziger & Bernstein 2021). V době růstu je vhodné zajistit rostlině více jak 15 hodin světla. Pro fázi kvetení je nejvhodnější 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Pro sazenice a řízků se využívají trubicové zářivky, které nevydávají příliš tepla a pro vzrostlejší rostliny jsou vhodné halogenidové lampy ve fázi růstu a lampy se sodíkovou výbojkou v době kvetení (Adams 2012).

Vzduch

Mezi důležité podmínky pro pěstování konopí patří také cirkulace vzduchu a jeho vlhkost. Musí být zajištěn dostatečný přísun kyslíku (O_2) a oxidu uhličitého (CO_2). CO_2 a O_2 rostlina využívá k fotosyntéze. Pokud tedy není zajištěna dostatečná koncentrace těchto dvou látek, růst rostliny se zastaví (Folina et al. 2019). Vlhkost vzduchu by se měla během vegetativní fáze pohybovat mezi 50 a 80 %. V době kvetení by neměla přesáhnout 60 %. Teplota vzduchu by měla být ideálně mezi 20 a 25 °C a v noci by teplota neměla klesnout o více jak 10 °C (Adams 2012).

3.5.2 Typy pěstebních systémů

Systémy vhodnými pro pěstování konopí je pěstování v půdním substrátu nebo pomocí hydroponického systému. Oba tyto systémy mají své výhody i nevýhody (Jin et al. 2019).

Hydroponie

Pod pojmem hydroponie se skrývá pěstování rostlin bez půdy. Rostliny totiž nepotřebují půdu, ale potřebují vitamíny a minerály, které půda může obsahovat. V hydroponii se rostliny pěstují v interním médiu a jsou zavlažovány roztokem obsahujícím směs primárních a sekundárních mikroživin (El-Kazzaz 2017). Díky tomuto systému má pěstitel větší kontrolu nad pěstebním prostředím tím, že ke kořenům dodává celou škálu živin a snadněji reguluje hodnotu pH v živném roztoku, která by měla být 5,2 až 5,8. Běžně používanými médii pro hydroponii jsou keramzitové kamínky, minerální vlna nebo kokosová vlákna. Výhodou hydroponického pěstování je to, že živný roztok udržuje stále stejné množství dostupných živin, zatímco půda může svoje složení měnit tím, jak se živiny spotřebovávají. Tento typ pěstebního systému je však mnohem složitější a náročnější na provoz a údržbu než klasické pěstování v půdě. Vyžaduje stálou dostupnost vody, elektřiny a živin (El-Kazzaz 2017; Jin et al. 2019; Folina et al. 2019).



Obrázek 5: Minerální vlna (Thakulla et al. 2021)

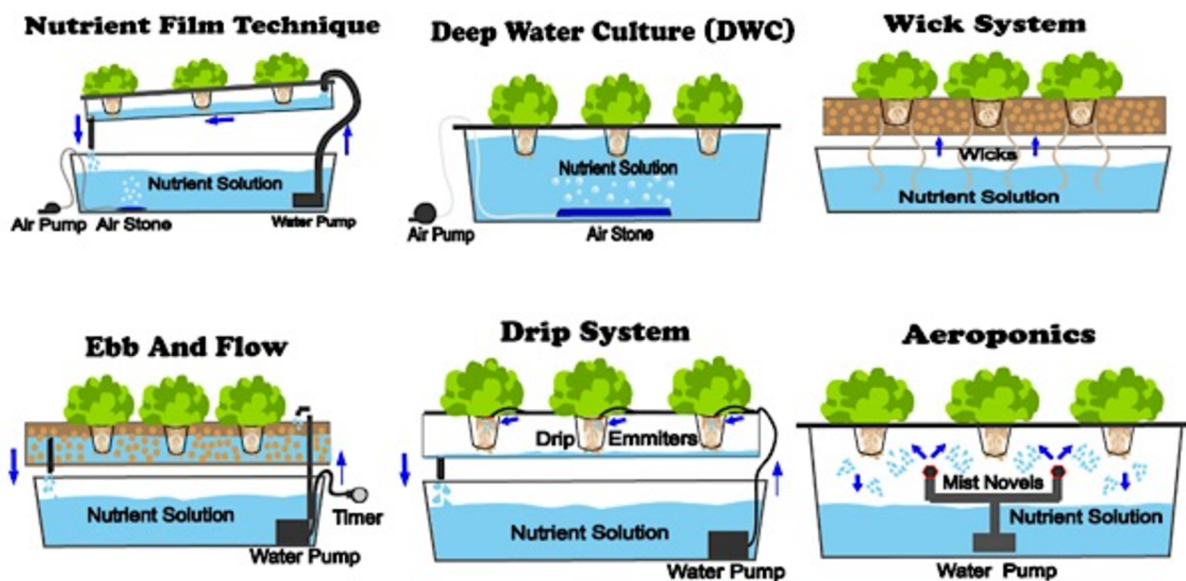


Obrázek 4: Kokosové vlákno (Thakulla et al. 2021).



Obrázek 3: Keramzitové kamínky (Thakulla et al. 2021).

Aktivní hydroponické systémy využívají ke svému fungování čerpadla a řadíme mezi ně Nutrient Film Technique (technika živného média), Ebb and Flow system (systém s přílivem a odlivem), Dripp system (systém kapkové závlahy), Deep Water Culture system (systém hluboké vodní kultury) a aeroponii. Pasivní systémy využívají kapilárního působení k přivádění vody ke kořenům a zahrnují Reservoir systems (systémy s vodní nádrží), Wick systems (knotové systémy) a Capillar mats (systémy s kapilárními rohožemi) (Modu et al. 2020).



Obrázek 6: Porovnání různých typů hydroponických systémů (Ecoideaz 2021).

Půdní substrát

Pěstování konopí v zemině je tradičním způsobem pěstování. Tento typ pěstování je levnější než pěstování v hydroponickém systému. Půdní substráty jsou však náchylnější k výskytu škůdců a chorob a je také obtížnější určit pH v půdním substrátu. Rostliny v těchto substrátech také rostou pomaleji. Půdní substrát musí být lehký a vzdušný, aby kořeny měly dostatek kyslíku a nezpomaloval se jejich růst. Dalším aspektem vhodného substrátu je jeho absorpce vody. Čím lépe je substrát provlhčený tím lépe se po celém květináči rozvádí živiny. Substrát by měl být biologického původu bez chemického ošetření.

Půdní substrát obsahuje jak anorganické, tak organické složky. Anorganické složky slouží k lepšímu provzdušnění substrátu. Anorganickou složkou substrátu může být perlit, keramzit, písek, štěrk nebo hlína. Organické složky tvoří podstatnou část půdních substrátů. Zvyšují jeho výživovou hodnotu, zlepšují absorpční schopnost, ovlivňují pH a mnoho dalšího. Organickou složkou substrátu může být humus, rašelina, netopýří trus nebo žížalí trus.

Hnojení může probíhat přímo se zavlažováním, přes listy nebo můžou být živné látky přítomny přímo v substrátu. Optimální pH substrátu pro rostlinu je 6,5 až 7,2 (Adams 2012; Mr. José 2012; Folina et al. 2019; Malík et al. 2021).

3.5.3 Škůdci a choroby

Jako u většiny rostlin i u konopí existuje velké množství škůdců a chorob, které ohrožují správný vývoj rostliny. Velmi často se škůdci nacházejí na spodní straně listu a je velmi těžké je odhalit. Nejrozšířenějšími škůdci parazitujícími na rostlině konopí jsou svilušky, smutnice, mšice, molice a trásněnky. Patogeny mohou napadat všechny části rostliny: kořeny, stonek, listy i květenství. Nejčastějšími chorobami konopí jsou houby a oomycety, převážně plíseň šedá (*Botrytis cinerea*), srpatka (*Fusarium oxysporum*) a rod *Pythium*. Rody *Fusarium* a *Pythium* napadají převážně kořeny rostlin a pokud napadení rostliny není řešeno, může dojít až k odumření rostliny. Nejškodlivějšími pro listy jsou pak houby rodu *Botrytis* a *Fusarium*.

Škůdce a choroby se mohou vyskytovat jak na konopí pěstovaném venku, tak na rostlinách pěstovaných v indoor podmínkách. Výskyt chorob a škůdců ve venkovním prostředí je však častější a je obtížnější jej zvládnout (Mr. José 2012; Punja 2021).

3.5.4 Výživa rostlin

Živiny jsou rostlině předávány především pomocí živného roztoku. Živný roztok je voda obohacená o živiny, které rostlina nutně potřebuje ke správnému vývoji. Tento roztok, kterým je rostlina zavlažována musí splňovat určité parametry, které usnadní absorpci živin. Těmito parametry jsou elektrická vodivost roztoku (EC) a jeho kyselost či zásaditost (pH). Obsah živin obsažených v roztoku, který je rostlině dodáván se mění v závislosti na fázi růstu. Nutností je také zohlednit, zda rostliny pěstujeme v půdním substrátu nebo v hydroponickém systému. Dle typu pěstování je také potřeba zohlednit teplotu živného roztoku. Při pěstování v půdě by se teplota živného roztoku měla pohybovat mezi 22–25 °C a při hydroponii mezi 18–22 °C (Adams 2012; Mr. José 2012).

Dle toho, jaké množství daných živin rostlina potřebuje rozlišujeme dvě skupiny, pro rostlinu potřebných prvků: makronutrienty a mikronutrienty. Skupinu prvků, kterých pro svůj správný vývoj potřebuje rostlina relativně velké množstvím nazýváme makronutrienty. Do této skupiny řadíme přijatelné formy následujících prvků: dusík (NO_3^- , NH_4^+), fosfor (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}), draslík (K^+), vápník (Ca^{2+}), síra (SO_4^{2-}) a hořčík (Mg^{2+}). Mikronutrienty jsou skupina prvků, které jsou pro rostlinu neméně důležité ale potřebuje jich menší množství. Mezi tyto prvky řadíme železo (Fe^{2+} , Fe^{3+}), chlór (Cl^-), mangan (Mn^{2+}), zinek (Zn^{2+}), měď (Cu^{2+} , Cu^+), bór (H_3BO_3 , H_2BO_3^-), molybden (MoO_4^{2-}) a nikl (Ni^{2+}) (Malík et al. 2021).

Pro to, aby rostlina mohla bez problémů přijímat dodávané živiny je třeba správně připravit živný roztok. Hodnota pH živného roztoku je důležitá, protože ovlivňuje dostupnost a vstřebávání živin potřebných pro růst rostlin. V hydroponii dochází k maximální absorpci živin obvykle při pH 5,8. V půdním substrátu se živiny maximálně absorbují při pH 6,5. Při příliš nízkém pH jsou některé makroživiny pro rostlinu hůře dostupné a může docházet k jejich nedostatku. Naopak pokud hodnota pH překročí doporučené rozmezí stane se pro rostlinu nedostupným velké množství mikroživin (Adams 2012; Malík et al. 2021).

Hodnota elektrické vodivosti nám udává koncentraci minerálů v roztoku. Čím vyšší je hodnota EC, tím více je v roztoku obsaženo živin. Nejpoužívanější jednotkou vodivosti je mS/cm^3 (miliSiemens/ cm^3). Doporučená hodnota EC je rozdílná u jednotlivých fází růstu rostliny. U malých rostlinek (sazenice a řízky) by se hodnota EC měla pohybovat mezi 0,8-1 mS/cm^3 a ve fázi kvetení a růstu by tato hodnota měla být navýšena až na 1,2-2 mS/cm^3 (Adams 2012; Mr. José 2012).

3.6 Zpracování konopí

3.6.1 Sklizeň, sušení, homogenizace

Obvyklá doba sklizně konopí je mezi 7. a 14. týdnem kvetení. Tato doba se pozná také tím, že pestíky rostliny začínají červenat (Adams 2012; Crispim Massuela et al. 2022). Rostliny by se měly sklízet převážně ručně a květenství by měla být zbavena stonků a přebytečných listů (Żuk-Gołaszewska & Gołaszewski 2020).

Oddělená květenství určená pro získání kvalitního materiálu k farmaceutickému zpracování by se měla dle Żuk-Gołaszewska & Gołaszewski (2020) sušit při teplotě 40 °C po dobu 15 hodin. Usušený materiál by měl mít vlhkost přibližně 8 % a měl by být skladován při teplotě 18–20 °C. Pokud nejsou dodrženy optimální podmínky prostředí, může při sušení dojít k napadení plísní a znehodnocení výsledného produktu (Punja 2021).

3.7 Biologicky aktivní látky v konopí

Konopí je rostlina velmi bohatá na různé bioaktivní látky. Bylo v ní identifikováno asi 750 sloučenin kterými jsou kanabinoidy, flavonoidy, terpenoidy, stilbenoidy, alkaloidy, steroidy, polysacharidy, benzochinon, fenantreny, spiroindany, lignany, mastné kyseliny, cukry, uhlovodíky, aminokyseliny a bílkoviny (Liu et al. 2022).

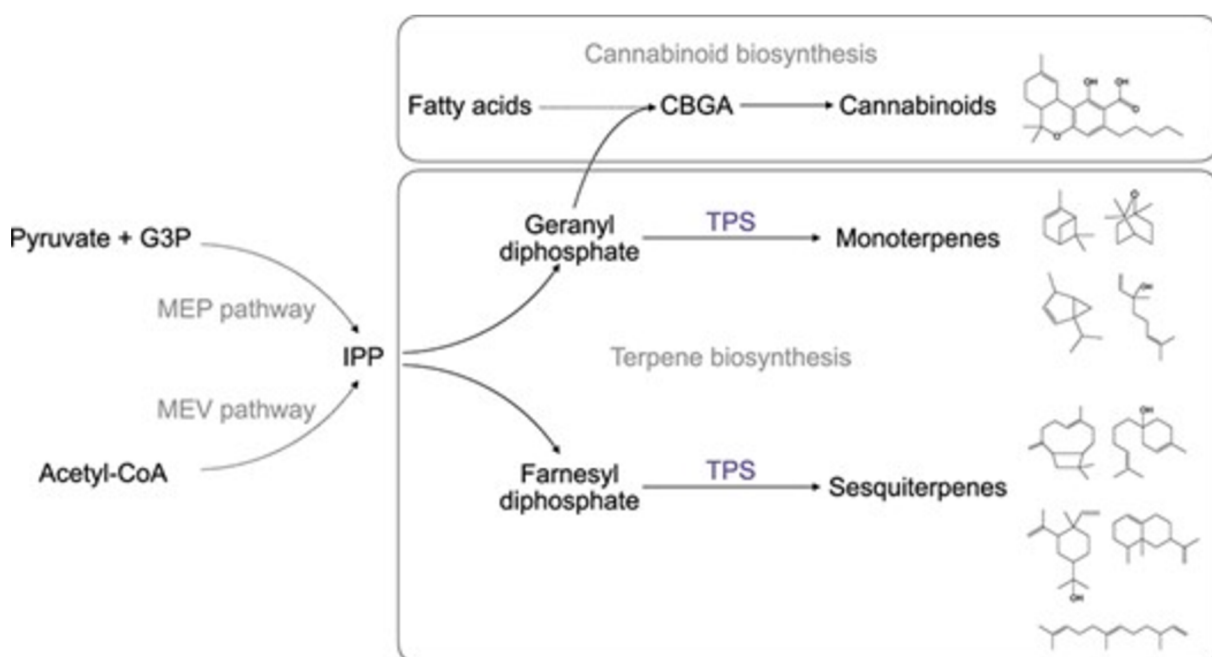
3.7.1 Terpenické látky

Terpenické látky tvoří druhou nejpočetnější skupinu biologicky aktivních látek v konopí (Radwan et al. 2021). Terpeny jsou uhlovodíky s malými izoprenovými jednotkami navzájem spojenými do řetězců. Od terpenů jsou odvozeny terpenoidy, což jsou terpeny obsahující kyslík. V rostlině konopí se obvykle vyskytují čtyři typy terpenů a terpenoidů v závislosti na počtu izoprenových jednotek. Jsou to monoterpeny (ze dvou izoprenových jednotek), seskviterpeny (ze tří izoprenových jednotek), diterpeny (ze čtyř izoprenových jednotek) a triterpeny (ze šesti izoprenových jednotek). Z květů, kořenů, listů, trichomů a esenciálních olejů rostliny konopí bylo izolováno více než 200 různých těkavých látek z nichž bylo až 98 % charakterizováno jako terpeny ze skupin monoterpenů a seskviterpenů (Nuutinen 2018; Gonçalves et al. 2020; Sommano et al. 2020).

Terpeny jsou hlavní složkou konopné pryskyřice a jsou zodpovědné za jeho aroma. Konopné terpeny se podílejí na sensorických vlastnostech konopí. Využívají se také k aromaterapii, přičemž zvyšují terapeutické účinky (Sommano et al. 2020). Rostliny produkují terpeny kvůli interakcím s jinými organismy. Terpeny ochraňují rostlinu před patogeny (houby, plísně, bakterie) a díky svému silnému aroma mohou přitahovat opylující hmyz nebo odpuzovat býložravé predátory (Nuutinen 2018; Zielonka et al. 2020).

Terpeny a terpenoidy jsou spolu s fytokanabinoidy syntetizovány ve žláznatých trichomech, které se nejhojněji vyskytují na povrchu samčích květenství. U konopí jsou charakterizovány tři druhy trichomů: baňkovité, přisedlé a stopkaté. Přisedlé trichomy najdeme na epidermis s krátkou stopkou a kulovitou hlavou tvořenou mnohobuněčným diskem sekrečních buněk a subkutikulární zásobní dutinou metabolitů. Stopkaté trichomy jsou o něco větší a mají kulovitou hlavičku vyvýšenou nad povrch epidermis mnohobuněčnou stopkou. Tyto dva typy trichomů u konopí se neliší jen morfologicky ale také odlišnými fluorescenčními vlastnostmi, počtem buněk v sekrečním disku a terpenovými profily. Sekreční buňky stopkatých trichomů jsou bohaté na kanabinoidy a monoterpeny. Naopak sekreční buňky přisedlých trichomů produkují málo kanabinoidů a více seskviterpenů (Sommano et al. 2020). Biosyntéza terpenických látek v rostlinách závisí na vzniku obecných pětiuhlíkatých izoprenoidních difosfátových prekurzorů (IPP) všech terpenů. IPP vzniká dvěma dráhami,

a to plastidiální dráhou methylerythritolfosfátu (MEP) a cytosolickou dráhou mevalonátu (MEV). Metabolické toky v rámci obou drah přispívají k zásobám substrátů, které jsou poté k dispozici pro terpenové syntázy (TPS). Dráha MEP se skládá ze sedmi kroků, které přeměňují pyruvát a glycerinaldehyd-3-fosfát na isopentenylidifosfát (IPP) a dimethylallyldifosfát (DMAPP). Dráha MEV přeměňuje tři jednotky acetyl-CoA na IPP, který je následně přeměněn na DMAPP. IPP a DMAPP jsou kondenzovány na izoprenoidní difosfáty, mezi které patří geranyl difosfát (GPP) a farnesyldifosfát (FPP). GPP je desetiuhlíkatý prekurzor monoterpenů a je obvykle odvozen z IPP na dráze MEP. FPP je naopak prekurzorem seskviterpenů a vzniká z jednotek IPP na dráze MEV. Lineární izoprenoidní difosfáty GPP a FPP jsou tedy substráty pro monoterpenové a seskviterpenové syntázy a umožňují vznik velkého množství různých terpenů. Některé TPS jsou určeny k produkci výhradně jednoho terpenu, zatímco jiné jsou vícesubstrátové a produkují více než jeden terpen (Booth et al. 2017; Nuutinen 2018; Roell 2020).



Obrázek 7: Znárodnění drah syntézy monoterpenů a seskviterpenů (Roell 2020).

3.7.1.1 Monoterpeny

Tuto skupinu můžeme rozdělit do dvou odlišných tříd, a to monoterpenové uhlovodíky a kyslíkaté monoterpeny. Monoterpeny z konopí mohou být acyklické, monocyklické nebo bicyklické (Radwan et al. 2021).

Alfa-pinen

Alfa-pinen je nejrozšířenějším terpenoidem v přírodě. Ve velkém množství se vyskytuje v jehličnatých stromech a najdeme ho i v esenciálních olejích šalvěje (Nuutinen 2018). Má vysokou biologickou dostupnost (až 60 % po inhalaci) s rychlým metabolismem a redistribucí. Russo & Marcu (2017) uvádí, že α -pinen zvýšil u pokusných myši pohyblivost o 13,77 % po inhalačním podání. V tradiční čínské medicíně je olej z jehličí používán jako protirakovinný prostředek. Alfa-pinen je výchozím materiálem pro syntézu ligandů kanabinoidních receptorů

CB2 ale afinita samotného pinenu k CB receptorům není známa. Jsou známy jeho antioxidační, protizánětlivé, antialergické a antibiotické vlastnosti (Nuutinen 2018).

Beta-pinen

Beta-pinen je bicyklický monoterpenový izomer běžně se vyskytující s α -pinenem. Stejně jako α -pinen je tedy obsažen v jehličnanech a také v chmelu. Beta-pinen se snadno přeměňuje na jiné terpeny a při kontaktu se vzduchem oxiduje na pinokarveol a myrtenol. Má antibiotické účinky proti *Staphylococcus aureus*, *Cryptococcus neoformans* a *Candida albicans*. Tato látka vykazuje antivirovou aktivitu proti viru *Herpes simplex*. Z tohoto důvodu by mohl být potencionálně využit při vývoji léčebných postupů pro některá chronická onemocnění (cukrovka, obezita, ateroskleróza a rakovina) (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018).

Beta-myrcen

Nejrozšířenějším terpenem, který se nachází ve většině odrůd konopí, je právě myrcen. Bylo dokázáno, že účinky myrcenu se odvíjí od jeho obsahu ve vzorku. Chemotypy konopí s vysokým obsahem myrcenu (více než 0,5 %) způsobí tzv. „couch lock“, tedy snížení energie. Naopak chemotypy s nižším obsahem myrcenu (méně než 0,5 %) způsobují větší přívál energie. Kromě konopí najdeme myrcen také např. ve chmelu, citronové trávě, bobkových listech, divokém tymiánu nebo v bazalce. Myrcenu jsou připisovány antipsychotické, antioxidační, analgetické, protizánětlivé, antikarcinogenní a sedativní účinky. Sedativní účinky myrcenu však mají v odborné literatuře jen slabou podporu. Myrcen svými vlastnostmi chrání mozek, kožní tkáň a srdce před záněty a může také bránit oxidačnímu poškození. V potravinářství je hojně využíván jako ochucovadlo a aroma při výrobě potravin a nápojů (Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020; Surendran et al. 2021).

D-Limonen

Tento cyklický monoterpen můžeme kromě konopí nalézt ve velké míře také v citronové kůře a v citrusech obecně. Ve velkém zastoupení limonen najdeme i v esenciálních olejích celeru nebo koriandru (až 75 %). Limonen se běžně vyskytuje v přírodě a má vysokou biologickou dostupnost. Byla pozorována 70% absorpce u člověka po plicním podání. V těle je rychle metabolizován ale hromadí se v tukových tkáních a mozku. Je známa jeho smrtelná dávka pro člověka, která činí 0,5-5 g/kg tělesné hmotnosti. Limonenu jsou připisovány antibakteriální, antimikrobiální, gastroprotektivní, antidepressivní a imunostimulační účinky. V některých studiích vykazoval výrazné antibiotické účinky proti bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*. Vykazoval i chemoterapeutické účinky tím, že vyvolával apoptózu buněk rakoviny prsu. Může zmírňovat stres, deprese, záněty, křeče a virové infekce nebo podporovat hojení ran (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020).

Beta-ocimen

Tento monoterpen je jedním z nejběžnějších terpenů v přírodě. Ve vědeckých studiích byla zjištěna jeho spjitost s odolností proti škůdcům (především proti plísním) a také s antikonvulzivní, antimykotickou a protinádorovou aktivitou (Russo & Marcu 2017; Hanuš & Hod 2020).

Terpinolen

Největší koncentrace terpinolenu nalezneme v Pastináku setém (*Pastinaca sativa*), běžný je ale i pro borovice a jedle. Údajně je terpinolen typický pro konopný typ *sativa*. U terpinolenu byly pozorovány antioxidační, protirakovinné, protizánětlivé a antinociceptivní (působící proti vedení bolestivých podnětů) vlastnosti. Bylo také prokázáno, že terpinolen zabraňuje oxidaci

lipoproteinů (LDL) což by mohlo mít význam v léčbě aterogeneze a ischemické srdeční choroby (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018).

Linalol

Linalol je běžně získávaným monoterpenoidem z levandule, bazalky nebo růže. Studie provedené na zvířatech i na lidech naznačují, že linalol vykazuje sedativní, anxiolytické, antikonvulzivní, antibakteriální, antimikrobiální, analgetické, protizánětlivé, protinádorové, neuroprotektivní a hepatoprotektivní vlastnosti (Nuutinen 2018).

Fenchol

Fenchol nebo také fenchylalkohol je bicyklický monoterpenoid běžný pro kozlík lékařský a bazalku. Známy je také jeho izomer borneol. Má antinociceptivní, antioxidační, neuroprotektivní a protizánětlivé účinky. Borneol také zvyšuje účinnost jiných léčiv díky tomu, že zvyšuje permeabilitu (Nuutinen 2018).

Terpineol

Terpineol je cyklický monoterpenoidní alkohol, který je přítomný v různých přírodních zdrojích. Rozeznáváme tyto formy terpineolu: α -terpineol, γ -terpineol a terpinen-4-ol. Kromě konopí je lze najít např. i v olejích z čajovníku. Terpinen-4-ol se ve vyšší koncentraci (až 29 %) nachází také v esenciálním oleji z levandule (Nuutinen 2018). U terpineolu byla prokázána antibiotická účinnost proti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* a *Propionibacterium acnes* (Russo & Marcu 2017). Pozorován byl také antioxidační, a relaxační účinek. α -terpineol vykazuje jistý potenciál proti astmatu, neurologickým poškozením, bolesti a křečím. U terpinen-4-olu byl pozorován mimo jiné i antikonvulzivní účinek (Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020).

Alfa-terpinen

V konopí se α -terpinen nachází jen v nízkých koncentracích. Je však hlavní složkou tee tree oleje a najdeme ho také v novém koření nebo v esenciálním oleji z čajovníku a *Litsea ceylanica*. Obvyklá je i jeho průmyslová výroba z α -pinenu (Russo & Marcu 2017). Přestože je tato látka silným antioxidantem, Nuutinen (2018) upozorňuje na možné nebezpečí jeho používání z důvodu nepříznivých účinků na zdraví mozku.

Gama-terpinen

Tento cyklický monoterpen obsažený mimo konopí také v kmínu, tymiánu a eukalyptu má analgetické, protizánětlivé, protinádorové a antimikrobiální účinky. Vykazuje také pozitivní účinky na koncentraci nízkodenzitních lipoproteinů (LDL) v krvi a oxidaci lipidů. Jeho potenciál tedy můžeme objevit v léčbě kardiovaskulárních onemocnění (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020).

Kamfen

Kamfen je cyklický monoterpen běžně se vyskytující v jehličnanech, nejběžnější je pro Douglasku tisolistou (*Pseudotsuga menziesii*). Ve studii na zvířatech, kterou popsali Russo & Marcu (2017), kamfen v masti s mentolem snižoval bronchospasmus (tj. zúžení průdušek). To naznačuje, že by kamfen mohl být využíván při léčbě chronické obstrukční plicní nemoci u lidí. Hanuš & Hod (2020) také zmiňuje možné využití při léčbě kardiovaskulárních onemocnění.

Alfa-felandren

Kromě konopí můžeme tento cyklický monoterpen najít ve chmelu (*Humulus lupulus*) a v *Eucalyptus phellandra*. Podle této rostliny získal felandren své jméno. Izolován byl také

z plodů růžového pepře (*Schinus terebinthifolius*). Felandreny jsou v Evropské unii schválenými ochucovadly a používají se také jako složka vůní (Nuutinen 2018). Dle Russo & Marcu (2017) byly u myši kyselinou octovou vyvolány břišní bolesti, na které felandren působil antinocicepticky. Dalšími účinky pozorovanými u tohoto terpenu je protizánětlivost, antimikrobiální a antidepresivní účinek (Nuutinen 2018).

3-Karen

3-Karen se v konopí vyskytuje jen v nízké koncentraci. Typický je pro konopí typu *sativa*. Ve vyšších koncentracích tento bicyklický monoterpenoidní alken najdeme v jehličnanech nebo v bílém pepři. Prokázala se u něj larvicidní aktivita u přenašečů malárie, horečky dengue a filariózy (Russo & Marcu 2017).

p-Cymen

Cyklický monoterpen p-cymen v přírodě nalezneme typicky v tymiánu. Tento terpen se snadno tvoří při zahřívání jiných monoterpenů (myrcen a terpineny) nebo při dlouhodobém skladování esenciálních olejů (Nuutinen 2018). U myši snižoval kroucení vyvolané podáním kyseliny octové a působil sedativně. Tento terpen vykazuje celou řadu účinků včetně protizánětlivých, antinociceptivních, antioxidačních, anxiolytických, protirakovinových a antimikrobiálních účinků. Svou účinnost prokázal také proti bakteriím *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens* a kvasinkám druhu *Candida albicans* (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018).

1,8-Cineol

1,8-cineol, jiným názvem také eukalyptol je hlavní složkou *Eucalyptus* spp. avšak v moderních chemovarech konopí se téměř nevyskytuje. Byl prokázán jeho antivirový účinek proti *Herpes simplex 2*. Již je zaznamenáno několik jeho účinků např. analgetický, antibiotický, antimikrobiální, cytotoxický a antimykotický (Russo & Marcu 2017; Hanuš & Hod 2020).

Perilyl alkohol

Kromě toho, že je perilyl alkohol přítomen v čeledi *Cannabaceae* se hojně vyskytuje v levanduli, šalvěji a máté peprné. Zejména však v esenciálních olejích třešní, máty, citronové trávy a citrusových plodů obecně. Tato látka z řad monoterpenů a jeho deriváty má silný potenciál v léčbě rakoviny, zejména proti mozkovým nádorům, nádorům prsu, plic a kůže. Jak již bylo zmíněno, perilyl alkohol a jeho deriváty vykazují protinádorové a protirakovinné vlastnosti. Pozorovány byly také antioxidační, protiplísňové, antiparazitické, nociceptivní a hepatoprotektivní účinky. Mimo přírodu můžeme tuto látku najít jako součást kosmetiky a některých čistících prostředků (Nuutinen 2018).

Fenchon

Kromě konopí je fenchon opět běžný i pro chmel. Přítomný je také v olivových listech, fenyklu a v květech *Lavandula stoechas*. U fenchonu byly zjištěny antimikrobiální a protizánětlivé účinky. Prokázal také svůj vliv na zvýšenou syntézu kolagenu a u potkanů urychloval hojení ran. Běžně se používá v parfumerii a v potravinářství jako ochucovadlo (Nuutinen 2018).

Geraniol

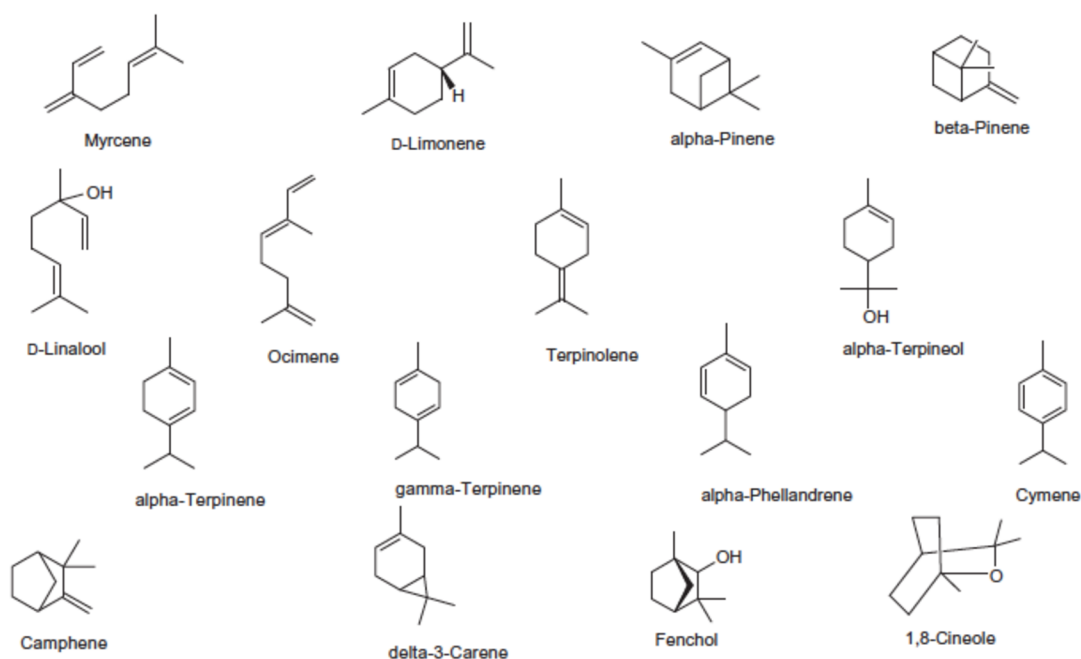
Geraniol je důležitou látkou pro syntézu jiných terpenů. Je hlavní složkou palmarosového oleje a hojně se vyskytuje i v růžovém oleji a v citronové trávě. Geraniol má potenciál pro léčbu některých onemocnění a zdravotních obtíží, např. rakoviny, diabetu, aterosklerózy, poranění tkání, bolesti a deprese (Nuutinen 2018).

Pulegon

Kromě čeledi *Cannabaceae* je pulegon hojně zastoupen v rodu *Mentha*, konkrétně v *Mentha puleginum*, podle kterého také dostal své jméno. Pulegon vykazuje jak pozitivní, tak negativní účinky. Mezi ty pozitivní patří např. protizánětlivé, antimikrobiální a antiparazitické účinky. Pro své nepříznivé účinky na ledvinové, srdeční a jaterní funkce však nemusí být vhodný jako léčivo na dlouhodobé používání (Nuutinen 2018).

Citral

Poslední monoterpen, který zde zmíníme je citral. U tohoto terpenu byly pozorovány cytotoxické, antimikrobiální, antimykotické a protinádorové účinky (Hanuš & Hod 2020).



Obrázek 8: Chemická struktura některých monoterpenů (Russo & Marcu 2017).

3.7.1.2 Seskviterpeny

Beta-elemen

Beta-elemen je monocyklický seskviterpenoidní polyalken vyskytující se také v lékařské bylině *Rhizoma zedoariae*, která se v Číně užívala k tišení bolesti a zlepšení krevního oběhu. Elemen je protinádorovou a antineoplastickou látkou. V Číně je injekčně podávaný elemen schválen pro léčbu rakoviny od roku 1993. Bylo popsáno, že elemen zvyšoval účinky chemoterapie při léčbě metastatického karcinomu mozku, karcinomu plic a jater a při léčbě leukemie. Potenciál by také mohl mít při léčbě aterosklerózy nebo roztroušené sklerózy (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020).

Beta-karyofylen

Nejdůležitějším a nejběžnějším terpenem v konopném extraktu je právě β -karyofylen. Je to jediný terpen, o kterém je známo že interaguje s endokannabinoidním systémem organismu a to tak, že se selektivně váže na receptor CB2. Přítomnost β -karyofylenu v mnoha esenciálních olejích může výrazně přispívat k jejich antivirové schopnosti. Tento terpen prokázal také svoji

larvicidní aktivitu proti přenašeči malárie, horečky dengue a japonské encefalitidy. Karyofylen má protizánětlivé, antidepressivní, analgetické, antioxidační, analgetické, gastroprotektivní a neuroprotektivní vlastnosti. Hanuš & Hod (2020) uvádí, že β -karyofylen vykazoval vysoký index selektivity proti viru *Herpes simplex* typu 1 in vitro. U léčby potkanů byl β -karyofylen schopen chránit srdeční tkáň před aterosklerózou a zabraňoval oxidaci lipidů. Spolu s jinými agonisty kanabinoidních receptorů CB2 se účastní buněčné ochrany, má vliv na stravovací návyky, kontrolu závislosti a konzumace alkoholu a přechází také poškození způsobenému právě alkoholem. Vykazuje velký potenciál pro léčbu roztroušené sklerózy a Parkinsonovy choroby (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020).

Humulen

Humulen je terpen, který se v konopí vyskytuje ve vysokých koncentracích. Hojně zastoupen je také v chmelu, šalvěji, ženšenu a v levanduli. Rostliny obsahující humulen se tradičně používají k léčbě deprese, úzkosti, nervozity, nespavosti a při poruchách trávení. Studie, kterou popsal Nuutinen (2018) odhalila, že perorální léčba inhibovala různé zánětlivé faktory u myši a potkanů. Humulen má protizánětlivé, protinádorové, protialergické a antibakteriální vlastnosti. Protinádorovou aktivitu humulenu významně zesiluje přítomnost β -karyofylenu (Russo & Marcu 2017; Hanuš & Hod 2020).

Gama-kadinen

Gama-kadinen je bicyklickým seskviterpenem s několika příznivými účinky. Byla prokázána jeho larvicidní aktivita proti přenašeči malárie, filariózy a horečky dengue. Vykazuje také vysokou antimikrobiální aktivitu proti *Streptococcus pneumoniae* a spolu se svými deriváty je účinným fungicidem (Nuutinen 2018).

Bisabolen

Alfa, beta a gama izomery bisabolenu se nacházejí v široké škále rostlin, např. v citronu nebo oreganu. Různé přírodní deriváty bisabolenu mohou fungovat jako feromony u některých druhů hmyzu. β -bisabolen je schválenou potravinářskou přísadou v Evropě. Má protinádorové, antibakteriální a antikonvulzivní vlastnosti (Nuutinen 2018).

Nerolidol

Kromě čeledi *Cannabaceae* najdeme nerolidol také v esenciálním oleji z kůry čajovníku, kde tvoří až 95 % všech terpenů. Hojně zastoupen je i v dalších rostlinách, např. v šalvěji, máté peprné, různých zázvorovitých rostlinách a v esenciálním oleji neroli, podle kterého získal nerolidol svůj název. Nerolidol by mohl mít slibné výsledky jako součást léčiv neurodegenerativních onemocnění. Již prokázal své sedativní, antibakteriální, antifungální, antioxidační, protizánětlivé, protinádorové nebo antiparazitické vlastnosti. Má také silné antimalaritické a antileishmaniální účinky (Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020).

Karyofylen oxid

Karyofylen oxid je oxidovaný derivát karyofylenu vyskytující se také v meduňce (*Melissa officinalis*), oreganu (*Origanum vulgare*), skořici (*Cinnamomum* spp.) nebo v *Melaleuca stypheloides*. Karyofylen oxid je látkou zodpovědnou za identifikaci konopí pomocí psů čichem hledajícími drogy. Jedná se o netoxickou a nesenzibilizující látku, která se běžně používá jako insekticid nebo jako konzervační látka v kosmetice, léčivech a potravinách. Tato látka je známá pro své antioxidační, baktericidní, protizánětlivé, protiplišňové, protirakovinné a analgetické účinky. Svou roli může také mít při kontrole diabetu typu 1 a 2,

hypertenzi, kardiovaskulárních onemocnění a onemocnění ledvin (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018; Hanuš & Hod 2020).

Guaiol

Guaiol má velmi příjemnou vůni podobnou růžím. Je nedráždivý, netoxický a nesenzibilizující. Nalezneme ho jako hlavní složku guajakového dřeva z *Bulnesia sarmientoi*. Guaiol má velké množství příznivých účinků jako je antioxidační, antiseptický, protinádorový, protizánětlivý, diuretický a antibiotický účinek. V aromaterapii je využíván k léčbě dny a revmatoidní artritidy. V arabské a čínské literatuře jsou popsány jeho inhibiční účinky na 5- α -reduktázu což by se mohlo ukázat jako užitečné při benigní hyperplazii prostaty nebo při léčbě mužské plešatosti (Russo & Marcu 2017).

Eudesmol

Izomery eudesmolu jsou bicyklické seskviterpenoidní alkenické alkoholy. Izomery γ a β jsou charakteristické pro konopný typ *indica*. Izomery eudesmolu najdeme také v chmelu a v čínské bylině *Atractylodes lancea*, která je v tradiční čínské medicíně využívána ke zmírnění gastrointestinálních problémů, léčbě bolestí celého těla a ucpaných nosních cest. β -eudesmol ve studii na myších stimuloval vyprazdňování žaludku a motilitu střev. Inhiboval také proliferaci lidských buněk rakoviny tlustého střeva a plic. Dalším účinkem je protizánětlivost. Jeho izomery mohou také stimulovat chuť k jídlu a využívat by se mohly při léčbě alergií (Russo & Marcu 2017; Nuutinen 2018).

Bisabolol

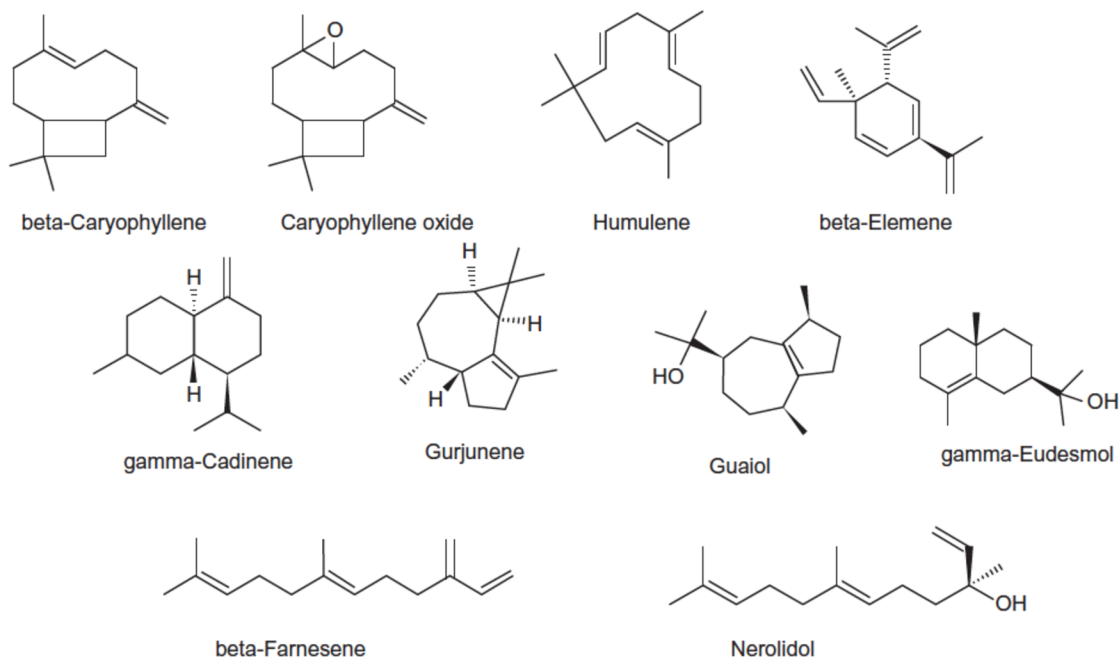
Bisabolol známý také jako levomenol najdeme kromě konopí i v šalvěji, chmelu a heřmánkovém oleji. Běžně se využívá v kosmetickém průmyslu. Prokázány byly jeho protinádorové účinky, prostřednictvím proapoptotických mechanismů. Naopak jeho antiapoptotická funkce může chránit zdravé buňky a být tak neuroprotektivní. Svůj podíl má také na nefro a gastroprotekcii. Bisabolol je širokospektrální antiparazitární léčivo a antibiotikum. Má také anxiolytické a protizánětlivé účinky (Nuutinen 2018).

Beta-farnesen

Beta-farnesen je pro svou vůni typickým acyklickým seskviterpenovým alkenem přítomný v konopí. Vykazuje antibakteriální, antimykotickou a antikarcinogenní aktivitu. Má také schopnost vychytávat volné radikály (Russo & Marcu 2017).

Farnesol

Farnesol má antibiotické a antialergické vlastnosti. Svou roli hraje také v buněčné proliferaci a apoptóze. Je to nejjednodušší alkohol, který lze syntetizovat z FPP a je to strukturní izomer nerolidolu (Nuutinen 2018).



Obrázek 9: Chemická struktura některých seskviterpenů (Russo & Marcu 2017).

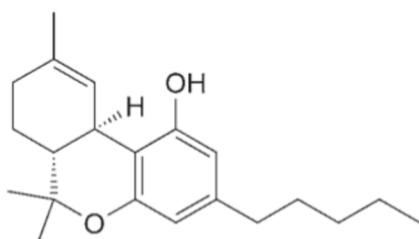
3.7.2 Kanabinoidní látky

Kanabinoidy jsou nejspeciřtější skupinou sloučenin v konopí. V roce 2022 je známo přinejmenším 144 kanabinoidů produkovaných konopím (Sionov & Steinberg 2022). Vzhledem k tomu, že kanabinoidy lze vyrobit i uměle vznikl pojem fytoKANABINOIDY, což je označení pro kanabinoidy přirozeně izolované z rostlin (Radwan et al. 2017). Z chemického hlediska se jedná o aromatické uhlovodíky obsahující kyslík, které na rozdíl od ostatních drog neobsahují dusík a nejsou tedy alkaloidy (Grotenhermen 2005). FytoKANABINOIDY, jejich deriváty a další produkty přeměny vyskytující se v rostlině konopí můžeme rozdělit do 11 podříd: kanabichromen (CBC), kanabidiol (CBD), kanabielsoin (CBE), kanabigerol (CBG), kanabicyklol (CBL), kanabinol (CBN), kanabinodiol (CBND), kanabitríol (CBT), delta-8-tetrahydrokanabinol (Δ^8 -THC), delta-9-tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC) a kanabinoidy různého typu (Radwan et al. 2021).

Syntéza a shromažďování kanabinoidů probíhá v trichomech stejně jako syntéza terpenů. Kanabinoidy vznikají pouze v jedné z drah, které byly zmíněny u syntézy terpenů, a to na dráze MEP. Touto cestou vzniká GPP, který je využíván k prenylaci kyseliny olivetové, čímž vzniká kyselina kanabigerolová (CBGA). CBGA je centrálním prekurzorem kanabinoidů. Z CBGA jsou dále syntetizovány kyseliny Δ -9-tetrahydrokanabinolová (Δ^9 -THCA), kanabidiolová (CBDA) a kanabichromenová (CBCA). Tyto kyseliny jsou konečným produktem enzymatické biosyntézy kanabinoidů. Samovolně během skladování nebo při vystavení teplu a záření dochází k dekarboxylaci nebo přeskupení těchto látek (Richins et al. 2018; Gülck & Møller 2020).

Δ^9 -THC

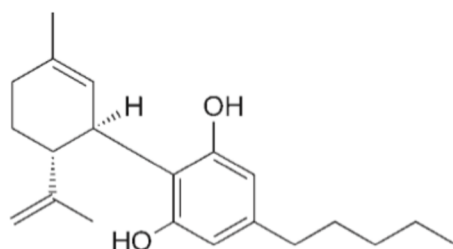
Δ^9 -THC je hlavní psychoaktivní složkou konopí (Goullé et al. 2008). Jeho struktura byla popsána v 60. letech 20. století. Své akutní psychoaktivní účinky vyvolává prostřednictvím endokannabinoidního receptoru typu 1 (CB1). Má i různé potenciální imunologické a protizánětlivé účinky, které jsou pravděpodobně zprostředkovány prostřednictvím endokannabinoidních receptorů typu 2 (CB2). Aktivace receptorů CB2 má mimo jiné za následek uvolňování dopaminu, avšak ve srovnání s jinými drogami (např. kokain) je množství uvolněného dopaminu pomocí THC velmi malá. K roku 2018 jsou ve Spojených státech amerických schváleny dvě syntetické formy THC v podobě léčiv: nabilon a dronabinol. Užívají se při léčbě nevolnosti a zvracení způsobených chemoterapií a také při léčbě anorexie (Bloomfield et al. 2016; Boggs et al. 2018).



Obrázek 10: Chemická struktura Δ^9 -THC (Mechoulam et al. 2007).

CBD

Kanabidiol je hlavní nepsychoaktivní složkou konopí. Poprvé byl izolován již v roce 1940 ale jeho struktura byla popsána až v roce 1963. V porovnání s Δ^9 -THC byla u CBD pozorována nižší afinita k receptorům CB1 a CB2. Bylo však zjištěno že CBD je inverzním agonistou lidského receptoru CB2 což může přispívat k jeho protizánětlivým účinkům. CBD také působí také jako doprovodná molekula snižující vedlejší účinky Δ^9 -THC čímž zvyšuje jeho bezpečnost. CBD má antikonvulzivní, neuroprotektivní, analgetické a antioxidační účinky a působí pozitivně proti nespavosti. Tato látka se považuje za možný léčebný prostředek při léčbě rakoviny, neurodegenerativních poruch, zánětů nebo diabetu. V mnohých klinických studiích byl zkoumán také jeho účinek na léčbu chronické bolesti, deprese, poruch spánku, psychóz a Tourettova syndromu. Tekutý přípravek CBD na olejové bázi (Epidiolex® v USA, Epidyolex v EU) byl roku 2018 schválen Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) a roku 2019 Evropskou agenturou pro léčivé přípravky (EMA) pro léčbu dvou epileptických poruch: syndrom Dravetové a Lennox-Gastautův syndrom (Pisanti et al. 2017; Blaskovich et al. 2021).



Obrázek 11: Chemická struktura CBD (Mechoulam et al. 2007).

3.7.3 Ostatní látky v konopí

Flavonoidy jsou pro rostliny důležité hned z několika důvodů. Jsou zodpovědné za symbiotickou fixaci dusíku, ochranu rostlin proti UV záření a mohou působit jako fyziologické regulátory. Tato skupina látek dodává rostlinám chuť, barvu a vůni. Flavonoidy můžeme rozdělit do šesti tříd: antokyanidiny, flavan-3-oly, flavonoly, flavanony, flavony a isoflavony. V konopí bylo k roku 2021 identifikováno 20 flavonoidů a většina z nich patří do skupiny flavanolů a flavonů. Flavonoidy mají také antioxidační účinek. Významní zástupci flavonoidů v konopí jsou kanaflavin A, B a C, orientin, vitexin, isovitexin apigenin, luteolin, kaempferol a kvercetin (Radwan et al. 2021; Lowe et al. 2021).

V konopí byly identifikovány pouze dva alkaloidy. Jako první byl v roce 1975 identifikován kanabisativin. Byl izolován z extraktů kořenu mexické varianty konopí pěstované v Mississippi. Později byla tato sloučenina extrahovaná také ze suchých listů a malých stonků thajské varianty konopí. Rok po objevu kanabisativinu byl ze suchých listů a malých stonků izolován druhý alkaloid a to anhydrokanabisativin. Alkaloidy mají různé účinky. Jsou jim přisuzovány antioxidační, analgetické, antibakteriální, protinádorové a další účinky (Radwan et al. 2021; Lowe et al. 2021).

Stilbeny a jejich deriváty stilbenoidy mají širokou škálu biologické aktivity a také významnou léčivou hodnotu pro člověka. V rostlinách plní svou roli při ochraně před chorobami a býložravci. Mezi hlavní stilbeny a stilbenoidy řadíme kanabistilben, denbinobin a dihydroresveratrol. Denbinobin má údajně příznivé vlastnosti jako antioxidant, inhibitor agregace krevních destiček a protinádorový prostředek. Dihydroresveratrol by mohl mít potenciál při léčbě akutní pankreatitidy díky tomu, že prokázal schopnost tlumit oxidační poškození pankreatu (Lowe et al. 2021).

3.7.4 Entourage efekt

Předpokládané interakce mezi fytoKANABINOIDY a dalšími složkami konopné pryskyřice, zejména terpeny, jsou známé jako entourage efekt. Tento efekt je popsán jako interakce mezi více látkami, kdy je zvýšena aktivita aktivní sloučeniny při synergii s neaktivní sloučeninou a byl zaveden v roce 1988 Mechoulamem a jeho kolegy. Tento vztah lze také vyjádřit nerovností $1 + 0 > 1$ (Booth & Bohlmann 2019; Hanuš & Hod 2020). Mezi domnělé aspekty entourage efektu můžeme zařadit léčbu závislostí, úzkosti, deprese, infekcí, epilepsie nebo rakoviny. Důkazy pro tento efekt najdeme v několika preklinických výzkumech. Existují také některé studie, které naopak interakci posilující efekt jednotlivých látek vyvrací. I přes přibývající studie potvrzující, že fytoKANABINOIDY a terpeny působí lépe společně než jednotlivě, najdeme v odborné literatuře taky mnoho skeptických názorů. Je tedy prozatím nejasné, zda terpeny opravdu ovlivňují aktivitu fytoKANABINOIDŮ a toto téma zůstává předmětem dalších výzkumů (Booth & Bohlmann 2019; Hanuš & Hod 2020; LaVigne et al. 2021).

3.8 Metody stanovování obsahových látek

Extrakční metody jsou zásadním krokem v analýze obsahových látek v konopí. Pro KANABINOIDY je nejlepší volbou extrakce pevná látka – kapalina. Vhodná rozpouštědla jsou např. polární methanol, ethanol a nepolární n-hexan. Je známo také několik studií, ve kterých

byla použita superkritická extrakce CO₂ (SFE-CO₂). Závěrem bylo, že tato metoda je z hlediska ekonomiky a ekologie lepší než techniky založené na organických rozpouštědlech.

Nejčastěji využívanými metodami pro analýzu kanabinoidních látek v konopí jsou plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). U plynové chromatografie (GC) však vysoká teplota a nastříkávání vzorku způsobuje dekarboxylaci kyselých kanabinoidů na jejich neutrální formu. Pro analýzu kanabinoidů pomocí GC se používají různé stacionární fáze. Nejrozšířenější stacionární fází je nepolární kolona z taveného oxidu křemičitého. Používán je především buď plamenově ionizační detektor (FID) nebo hmotnostní spektrometr. Optimální metodou pro stanovení kanabinoidů je však HPLC, protože nezahrnuje zahřívání a umožňuje tedy kvantifikaci přirozeně se vyskytujících kyselých i neutrálních forem. Pro detekci v HPLC se běžně využívá například ultrafialový (UV) detektor a detektor diodového pole (DAD) (ElSohly et al. 2017; Micalizzi et al. 2021). Nejběžněji využívanými metodami pro analýzu terpenů jsou GC-FID a GC-MS ale používají se i jiné techniky plynové chromatografie, např. dvourozměrná plynová chromatografie (GC x GC) (Ibrahim et al. 2019).

4 Metodika

4.1 Pěstování rostlin léčebného konopí

4.1.1 Výchozí materiál a pěstební podmínky

Pro zjišťování obsahu terpenických látek v léčebném konopí byl využit genotyp s pracovním názvem „McLove“. Rostlinný materiál byl pěstován v indoor pěstírně v budově České zemědělské univerzity v Praze. Rostliny byly umístěny do květináčů s objemem 3,7 l naplněných hydroponickým médiem keramzitem (Plagron, Nizozemsko). V pěstírně byly vytvořeny optimální podmínky pro růst konopí. Světelný režim zajišťovaly vysokotlaké sodíkové výbojky (HPS). Během fáze světla byla v pěstírně udržována teplota na 25 °C, během fáze tmy byla teplota snížena na 22 °C. Vlhkost vzduchu byla ve fázi kvetení 40 % a koncentrace CO₂ byla 1065 mg/m³.

4.1.2 Výživa rostlin

Rostliny v pěstírně byly vyživovány pomocí živného roztoku. Pro náš pokus byly zvoleny čtyři druhy živných roztoků. Ve všech typech výživy byla použita bio minerální hydroponická hnojiva vhodná pro použití v květové fázi rostlin (Plagron Hydro A a Hydro B). Toto hnojivo obsahuje všechny živiny v chelátové formě, a proto jsou pro rostlinu snadno dostupné. Poměr základních živin N-P-K je u varianty A 5-0-2 a u varianty B 2-4-9. Vždy se spolu dávkuje v poměru 1:1. Do některých živných roztoků byly také přidávány aditiva: Sugar Royal a Green Sensation. Sugar Royal obsahuje kompletní směs vitaminů, stopových prvků, aminokyselin a je obohacený o dusík. Green Sensation obsahuje fosfor, draslík, květové hormony, vitaminy, aminokyseliny a stopové prvky. Podporuje také tvorbu cukrů. V živném roztoku bylo pravidelně měřeno pH a EC. Přesné složení živných roztoků, které byly míchány každý 7. den od prvního dne pokusu, nalezneme v tabulkách 3, 4, 5 a 6. Hnojiva a aditiva byla míchána

v 80 l vody. Celý proces pěstování byl proveden ve dvou cyklech. Druhý cyklus byl proveden z důvodu ověření stability genotypu.

Tabulka 3: Složení živného roztoku v prvním typu výživy (A).

týden/období	1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
fáze	růst	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	sklizeň
Hydro A (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Hydro B (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Aditiva										
Sugar Royal (ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	jen voda
Green Sensation (ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	jen voda
pH	5,95	5,91	5,94	5,79	5,92	5,90	5,91	5,88	5,81	jen voda
EC (mS/cm)	0,97	1,19	1,31	1,54	1,61	1,83	1,82	1,78	0,02	jen voda

Tabulka 4: Složení živného roztoku v druhém typu výživy (B).

týden/období	1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
fáze	růst	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	sklizeň
Hydro A (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Hydro B (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Aditiva										
Sugar Royal (ml)	0	0	160	160	160	160	160	160	160	160
Green Sensation (ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	jen voda
pH	5,95	5,88	5,91	5,81	5,90	5,90	5,92	5,91	5,85	jen voda
EC (mS/cm)	0,97	1,22	1,32	1,49	1,60	1,84	1,76	1,75	0,01	jen voda

Tabulka 5: Složení živného roztoku ve třetím typu výživy (C).

týden/období	1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
fáze	růst	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	sklizeň
Hydro A (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Hydro B (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Aditiva										
Sugar Royal (ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	jen voda
Green Sensation (ml)	0	0	0	0	80	80	80	80	80	jen voda
pH	5,95	5,94	5,95	5,74	5,90	5,89	5,9	5,87	5,83	jen voda
EC (mS/cm)	0,97	1,42	1,30	1,54	2,05	2,40	2,34	2,23	0,03	jen voda

Tabulka 6: Složení živného roztoku ve čtvrtém typu výživy (D).

týden/období	1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
fáze	růst	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	květ	sklizeň
Hydro A (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Hydro B (ml)	128	160	176	200	176	200	200	200	200	jen voda
Aditiva										
Sugar Royal (ml)	0	160	160	160	160	160	160	160	160	jen voda
Green Sensation (ml)	0	0	0	0	80	80	80	80	80	jen voda
pH	5,95	5,91	5,88	5,85	5,90	5,89	5,90	5,89	5,82	jen voda
EC (mS/cm)	0,97	1,38	1,35	1,56	2,07	2,44	2,33	2,21	0,04	jen voda

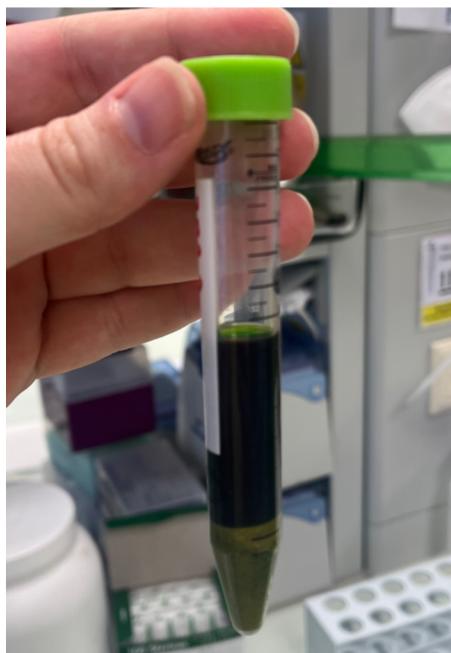
4.2 Zpracování rostlin léčebného konopí

4.2.1 Sklizeň, sušení a homogenizace

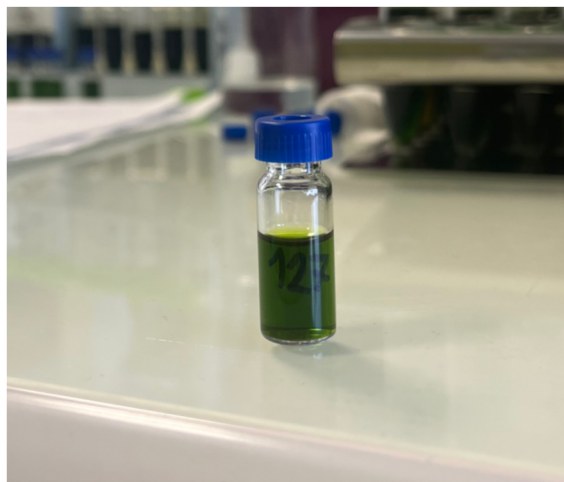
Květy byly sklizeny ručně pomocí nůžek v optimální zralosti od 7. do 11. týdne kvetení. Sebrané květy byly následně sušeny při 25 °C do konstantní vlhkosti 8-10 %. Usušený materiál byl uložen do vakuových sáčků a skladován v chladu při 4 °C. Před přípravou extraktů byly vzorky homogenizovány následujícím způsobem. Usušené květy byly zmrazeny tekutým dusíkem a drceny v třecí misce s tloučkem.

4.2.2 Příprava extraktů

Bylo naváženo 100 mg homogenizovaného vzorku a zakápnuto 1 ml hexanu. Jako vnitřní standard byl použit pentadekan. Zkumavky se vzorky byly zamíchány pomocí třepačky. Následně byly vloženy do laboratorní ultrazvukové lázně na 30 minut. Poté se vzorky 5 minut centrifugovaly při rychlosti 9000 otáček/min a finálním krokem byla filtrace přes stříkačkové nylonové filtry (PTFE 0,45 µl) do 2 ml vialek. Od každého vzorku byla provedena tři opakování.



Obrázek 12: Extrahovaný materiál po centrifugaci (foto autorka).



Obrázek 13: Vzorek po filtraci připravený na následné analýzy (foto autorka).

4.3 Identifikace a kvantifikace terpenů v léčebném konopí

Analýzy byly prováděny pomocí plynového chromatografu s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID) a plynového chromatografu s hmotnostním detektorem (GC-MS). Parametry těchto analýz jsou uvedeny v Tabulce 7. Detekované látky jsou identifikovány pomocí GC-MS na základě porovnání hmotnostních spekter a indexu relativních retenčních

indexů s literaturou, databází Národního Institutu pro Standardy a Technologie (NIST) a dostupnými standardy: α -terpineol, farnesen, karyofylen oxid, α -bisabolol, terpinolen, farnesol, guaiol, β -pinen, linalol, β -karyofylen, myrcen, α -humulen, eudesmol, aromadendren, borneol, limonen, α -felandren, nerolidol, globulol, p-cymen. Relativní obsahy identifikovaných látek byly vyjádřeny na základě porovnání plochy píku dané látky s celkovou plochou všech detekovaných látek. Následně byly tyto hodnoty přepočteny na obsah v mg/g sušiny.

Tabulka 7: Parametry analýz terpenických látek v konopných extraktech.

	GC-MS	GC-FID
Kolona	HP-5MS 30 m × 0,25 mm; 0,25 μ m	DB5 30 m × 0,25 mm; 0,25 μ m
Stacionární fáze	5 % fenylmethylsiloxan	5% difenyl – 95% dimethylpolysiloxan
Nosný plyn	helium, 1,0 ml/min, konstantní tok	dusík, 1,0 ml/min, konstantní tok
Injekční mód	bez děliče toku 230 °C	s děličem toku 230 °C
Splitovací poměr	-	15:1
Teplotní program	60 °C na 3,5 min, 3,5 °C/min na 150 °C, 30 °C/min na 300 °C po 10 min	60 °C, 3,5 °C/min na 150 °C, 30 °C/min na 300 °C po 10 min
Teplota detektoru	300 °C	300 °C
Nástřík	1,5 μ l	1,5 μ l

4.4 Statistické vyhodnocení výsledků

Pro vyhodnocení obsahu jednotlivých terpenických látek v sušeném květenství konopí byly použity základní popisné statistiky (průměr a směrodatná odchylka). Pro určení stability těchto obsahů byla použita jednofaktorová ANOVA s hladinou významnosti $p < 0,05$ a Tukeyho post hoc test v programu Statistica 12.

5 Výsledky

V sušeném květenství léčebného konopí se podařilo identifikovat třináct terpenů. Porovnáván byl jejich obsah v mg/g sušiny s ohledem na typ výživy a termín sklizně.

Jako první jsme se zaměřili na porovnání obou cyklů. Cílem bylo zjistit, zda se od sebe jednotlivé cykly liší nebo nikoli, což nám potvrdí stabilitu odrůdy. Porovnáván byl vždy stejný typ výživy z obou cyklů. Statisticky významný rozdíl v obsahu terpenických látek mezi cykly byl u prvního typu výživy (A) pozorován pouze u β -myrcenu a nerolidolu. U druhého typu výživy (B) byl statisticky významný rozdíl v cyklech pozorován u α -pinenu, β -pinenu a globulolu. U třetího (C) a čtvrtého (D) typu výživy nebyl mezi cykly pozorován žádný statisticky významný rozdíl. Až na pár výjimek se od sebe jednotlivé cykly nelišily, proto považujeme námi zkoumaný genotyp za stabilní z hlediska obsahu terpenických látek.

5.1 Výživa

V prvním cyklu byl statisticky významný rozdíl mezi obsahy terpenických látek v závislosti na typu výživy pozorován u α -pinenu, β -pinenu, β -myrcenu a α -terpineolu. Nejvyšší výtěžnost byla v tomto případě třetí (C) a čtvrtý (D) typ výživy.

U druhého cyklu byly pozorovány statisticky významné rozdíly mezi typy výživy u většiny detekovaných terpenů. Nejvyšší naměřené hodnoty byly v druhém cyklu u výživy C a D v obsahu těchto terpenů: α -pinen, β -pinen, β -myrcen, limonen, linalol, α -terpineol, α -humulen, nerolidol, globulol, guaiol. Výjimkou je α -bisabolol, který byl identifikován a kvantifikován především u typu výživy A. Ve výživových variantách C a D se nenacházel vůbec.

5.2 Termín sklizně

Porovnáván byl také statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými týdny sklizně s ohledem na obsah terpenických látek. Tento rozdíl byl pozorován pouze u β -karyofylenu, α -humulenu a nerolidolu. Rozdíly byly pozorovány mezi osmým a devátým týdnem. V případě β -karyofylenu byl statisticky významný rozdíl také mezi sedmým a devátým týdnem. Koncentrace terpenických látek v těchto případech závisela také na typu výživy. U ostatních terpenů nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v jejich obsahu.

5.3 Terpenické látky

Nejvíce zastoupenými terpeny v našem pokusu byly limonen a β -myrcen. Avšak mezi jednotlivými týdny sklizně nebyly v obsahu těchto terpenů žádné statisticky významné rozdíly. Naopak nejmenší obsah byl pozorován u α -bisabololu a farnesolu, které v některých případech nebyly ve vzorcích detekovány vůbec.

Obsah terpenických látek prvního cyklu v závislosti na typu výživy a termínu sklizně znázorňuje Tabulka 8 a Tabulka 9. Získané hodnoty pro druhý cyklus jsou v Tabulce 10 a v Tabulce 11.

Tabulka 8: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro první cyklus (α -pinen – β -karyofylen).

výživa	týden	průměr mg/g						
		α -Pinen	β -Pinen	β -Myrcen	Limonen	Linalol	α -Terpineol	β -Karyofylen
IA	7.	0,100±0,012	0,187±0,021	0,695±0,207	0,977±0,169	ND	ND	0,577±0,127
	8.	0,095±0,015	0,175±0,027	0,503±0,146	0,883±0,183	ND	ND	0,500±0,123
	9.	0,120±0,011	0,227±0,024	0,939±0,332	1,251±0,198	0,148±0,063	0,138±0,035	0,713±0,154
	10.	0,119±0,019	0,220±0,035	0,695±0,124	1,069±0,285	0,122±0,031	0,112±0,017	0,590±0,040
	11.	0,126±0,023	0,246±0,036	1,136±0,167	1,425±0,164	0,148±0,017	0,154±0,027	0,710±0,142
IB	7.	0,126±0,020	0,235±0,039	0,855±0,239	1,346±0,279	0,090±0,003	0,103±0,013	0,443±0,102
	8.	0,163±0,006	0,310±0,012	1,246±0,162	1,726±0,254	0,182±0,020	0,163±0,002	0,882±0,181
	9.	0,148±0,019	0,275±0,035	1,170±0,019	1,565±0,116	0,119±0,009	0,125±0,014	0,590±0,088
	10.	0,158±0,012	0,296±0,024	1,165±0,296	1,725±0,401	0,095±0,018	0,122±0,006	0,553±0,014
	11.	0,146±0,018	0,271±0,032	0,802±0,111	1,433±0,081	0,090±0,001	0,115±0,011	0,427±0,030
IC	7.	0,197±0,008	0,371±0,016	1,557±0,190	2,143±0,205	0,146±0,006	0,164±0,010	0,669±0,053
	8.	0,198±0,038	0,370±0,074	1,534±0,221	2,093±0,274	0,132±0,023	0,159±0,026	0,576±0,033
	9.	0,174±0,023	0,333±0,065	1,479±0,868	1,957±0,575	0,142±0,083	0,168±0,080	0,597±0,114
	10.	0,147±0,004	0,274±0,003	0,867±0,101	1,463±0,136	0,088±0,001	0,125±0,007	0,428±0,036
	11.	0,224±0,035	0,433±0,066	1,831±0,327	2,807±0,563	0,183±0,015	0,211±0,020	0,710±0,144
ID	7.	0,210±0,016	0,390±0,034	1,758±0,132	2,532±0,183	0,140±0,007	0,161±0,010	0,503±0,062
	8.	0,200±0,041	0,375±0,071	1,325±0,379	2,173±0,490	0,125±0,006	0,150±0,012	0,529±0,043
	9.	0,134±0,105	0,373±0,049	0,996±0,684	1,791±0,784	0,087±0,023	0,132±0,025	0,438±0,075
	10.	0,235±0,034	0,462±0,072	1,745±0,394	3,122±0,579	0,240±0,023	0,230±0,019	0,795±0,111
	11.	0,180±0,013	0,354±0,025	1,188±0,074	1,867±0,065	0,148±0,017	0,182±0,013	0,454±0,034

Tabulka 9: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro první cyklus (α -humulen – farnesol).

výživa	týden	průměr mg/g					
		α -Humulen	Nerolidol	Globulol	Guaiol	α -Bisabolol	Farnesol
IA	7.	0,221±0,049	0,382±0,054	0,239±0,054	0,390±0,065	ND	ND
	8.	0,190±0,046	0,329±0,059	0,203±0,021	0,332±0,060	ND	ND
	9.	0,275±0,063	0,403±0,046	0,260±0,035	0,417±0,047	ND	ND
	10.	0,224±0,014	0,371±0,043	0,198±0,012	0,393±0,034	0,100±0,002	ND
	11.	0,278±0,058	0,433±0,067	0,376±0,041	0,488±0,071	ND	ND
IB	7.	0,170±0,038	0,335±0,063	0,238±0,034	0,354±0,054	ND	ND
	8.	0,343±0,070	0,494±0,037	0,314±0,023	0,576±0,078	0,122±0,019	ND
	9.	0,226±0,035	0,382±0,053	0,233±0,027	0,422±0,046	ND	ND
	10.	0,214±0,004	0,394±0,023	0,323±0,013	0,434±0,008	ND	ND
	11.	0,166±0,012	0,308±0,026	0,296±0,034	0,362±0,020	ND	ND
IC	7.	0,262±0,022	0,413±0,037	0,294±0,022	0,489±0,031	ND	ND
	8.	0,226±0,014	0,413±0,006	0,290±0,033	0,459±0,020	ND	ND
	9.	0,238±0,052	0,430±0,095	0,403±0,089	0,482±0,090	ND	ND
	10.	0,170±0,013	0,308±0,033	0,323±0,016	0,390±0,025	ND	ND
	11.	0,283±0,057	0,456±0,082	0,322±0,022	0,605±0,083	ND	ND
ID	7.	0,200±0,024	0,362±0,036	0,277±0,043	0,439±0,026	ND	ND
	8.	0,211±0,019	0,428±0,035	0,398±0,020	0,459±0,022	ND	ND
	9.	0,152±0,032	0,248±0,126	0,361±0,061	0,392±0,051	ND	ND
	10.	0,327±0,043	0,537±0,064	0,408±0,033	0,676±0,033	ND	ND
	11.	0,187±0,015	0,327±0,004	0,308±0,036	0,473±0,028	ND	ND

Tabulka 10: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro druhý cyklus (α -pinen – β -karyofylen).

výživa	týden	průměr mg/g						
		α -Pinen	β -Pinen	β -Myrcen	Limonen	Linalol	α -Terpineol	β -Karyofylen
2A	7.	0,089±0,018	0,168±0,033	0,555±0,110	0,776±0,138	0,093±0,015	0,097±0,012	0,943±0,133
	8.	0,089±0,011	0,162±0,021	0,547±0,105	0,851±0,121	0,104±0,009	0,089±0,008	0,953±0,037
	9.	0,083±0,018	0,155±0,031	0,489±0,105	0,748±0,174	0,102±0,010	0,092±0,007	0,684±0,083
	10.	0,073±0,007	0,136±0,014	0,427±0,055	0,635±0,058	0,111±0,025	0,088±0,012	0,723±0,118
	11.	0,097±0,012	0,190±0,022	0,586±0,074	0,933±0,082	0,118±0,023	0,127±0,007	0,849±0,078
2B	7.	0,091±0,009	0,172±0,019	0,603±0,045	0,812±0,064	0,122±0,012	0,115±0,011	0,870±0,097
	8.	0,111±0,008	0,229±0,018	1,177±0,094	1,352±0,085	0,232±0,019	0,209±0,012	0,933±0,139
	9.	0,136±0,003	0,258±0,005	0,876±0,055	1,310±0,046	0,171±0,025	0,154±0,006	0,928±0,091
	10.	0,159±0,008	0,299±0,017	1,045±0,044	1,443±0,114	0,138±0,016	0,166±0,011	0,836±0,078
	11.	0,135±0,021	0,261±0,038	1,059±0,074	1,466±0,146	0,159±0,022	0,165±0,029	0,992±0,033
2C	7.	0,156±0,008	0,315±0,017	1,793±0,172	1,960±0,178	0,241±0,043	0,233±0,037	0,902±0,166
	8.	0,106±0,009	0,229±0,018	1,349±0,141	0,926±0,626	0,304±0,050	0,255±0,037	0,901±0,197
	9.	0,180±0,019	0,343±0,036	0,933±0,075	1,509±0,131	0,110±0,016	0,172±0,023	0,638±0,076
	10.	0,144±0,002	0,276±0,006	0,671±0,005	1,338±0,047	0,133±0,002	0,163±0,013	0,776±0,071
	11.	0,151±0,019	0,293±0,034	0,865±0,102	1,361±0,166	0,156±0,020	0,175±0,017	0,541±0,099
2D	7.	0,137±0,023	0,281±0,046	1,144±0,178	1,631±0,250	0,254±0,031	0,227±0,021	0,559±0,063
	8.	0,162±0,016	0,305±0,028	0,907±0,052	1,628±0,101	0,154±0,007	0,184±0,007	0,613±0,071
	9.	0,153±0,009	0,298±0,020	0,872±0,013	1,610±0,013	0,165±0,019	0,193±0,007	0,621±0,123
	10.	0,202±0,018	0,397±0,034	1,509±0,104	2,448±0,175	0,263±0,026	0,261±0,020	0,540±0,042
	11.	0,181±0,014	0,359±0,029	1,049±0,043	1,831±0,093	0,356±0,024	0,278±0,019	0,625±0,024

Tabulka 11: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro druhý cyklus (α -humulen – farnesol).

výživa	týden	průměr mg/g					
		α -Humulen	Nerolidol	Globulol	Guaiol	α -Bisabolol	Farnesol
2A	7.	0,363±0,053	0,592±0,071	0,360±0,064	0,576±0,078	0,121±0,007	0,080±0,011
	8.	0,362±0,015	0,653±0,005	0,373±0,034	0,569±0,006	0,117±0,004	0,083±0,002
	9.	0,263±0,031	0,419±0,016	0,335±0,046	0,452±0,047	0,098±0,006	ND
	10.	0,280±0,048	0,493±0,069	0,316±0,061	0,507±0,081	0,115±0,012	0,082±0,004
	11.	0,333±0,032	0,571±0,031	0,442±0,008	0,615±0,027	0,109±0,014	0,085±0,005
2B	7.	0,344±0,040	0,612±0,030	0,405±0,011	0,625±0,044	0,106±0,007	0,083±0,002
	8.	0,372±0,057	0,558±0,054	0,478±0,022	0,599±0,080	ND	0,084±0,010
	9.	0,365±0,037	0,668±0,042	0,413±0,026	0,654±0,055	ND	0,083±0,008
	10.	0,332±0,029	0,605±0,057	0,499±0,028	0,609±0,044	ND	0,081±0,006
	11.	0,395±0,019	0,634±0,046	0,516±0,072	0,675±0,024	0,107±0,001	0,087±0,003
2C	7.	0,362±0,069	0,610±0,106	0,500±0,085	0,618±0,088	ND	0,085±0,012
	8.	0,372±0,086	0,630±0,163	0,432±0,083	0,710±0,142	ND	0,097±0,024
	9.	0,257±0,031	0,563±0,071	0,423±0,043	0,550±0,058	ND	0,079±0,001
	10.	0,312±0,029	0,624±0,077	0,535±0,047	0,636±0,056	ND	0,084±0,009
	11.	0,219±0,037	0,404±0,072	0,373±0,058	0,523±0,070	ND	ND
2D	7.	0,230±0,025	0,422±0,066	0,337±0,039	0,572±0,112	ND	ND
	8.	0,252±0,029	0,490±0,028	0,461±0,055	0,544±0,041	ND	0,077±0,002
	9.	0,254±0,051	0,533±0,094	0,455±0,018	0,591±0,040	ND	ND
	10.	0,225±0,018	0,446±0,030	0,365±0,016	0,587±0,029	ND	ND
	11.	0,266±0,011	0,557±0,016	0,385±0,026	0,759±0,042	ND	0,078±0,005

6 Diskuze

Díky dostupným standardům a NIST se nám podařilo identifikovat třináct terpenů obsažených v sušeném květenství konopí. Tyto terpeny byly identifikovány také v nedávné studii, kterou provedli Janatová et al. (2022). Terpeny, které se nám podařilo identifikovat popsali také Russo & Marcu (2017) ve svém článku o obsahových látkách konopí. To dokazuje, že se jedná o látky běžně se v konopí vyskytující. Janatová et al. (2022) identifikovali více jak šedesát různých terpenických látek v šesti odrůdách konopí. Ve své studii označili jako majoritní látky dvacet terpenických látek ze všech identifikovaných. Patří mezi ně také limonen, linalol, α -terpineol, β -karyofylen, α -humulen, guaiol a bisabolol. Isidore et al. (2021) označují za převládající terpen v konopí také β -myrcen. Což jsou látky identifikované a popsané také touto diplomovou prací.

6.1 Výživa

Významný rozdíl v koncentraci terpenických látek byl pozorován u výživového typu C a D. Je k dispozici jen malé množství studií, které zkoumají vliv výživy na obsah sekundárních metabolitů v léčebném konopí. Saloner & Bernstein (2021) se ve své studii věnovali vlivu dusíku ve výživě léčebného konopí s ohledem na změny v obsahu terpenických látek. Pokud se zaměříme na výsledné koncentrace stejných terpenů, které byly identifikovány námi, můžeme zde uvést následující výsledky jejich studie. Koncentrace α -pinenu a β -pinenu lehce rostla se zvětšujícím se množstvím dusíku v živném roztoku. Koncentrace myrcenu se v závislosti na dusíku v živném roztoku nijak významně neměnila a u všech ostatních monoterpenů se s nárůstem dávky dusíku jejich koncentrace snižovaly. U většiny testovaných seskviterpenů se jejich koncentrace s narůstající dávkou také snižovala ale tyto rozdíly nebyly významné (Saloner & Bernstein 2021). Z této studie vyplývá, že vysoké koncentrace dusíku nejsou nutné pro zvýšení obsahu terpenických látek v konopí. To podporuje také náš výsledek, kdy zvýšené obsahy byly pozorovány ve výživových typech obsahujících aditivum Plagron Green Sensation, které dusík neobsahuje. A naopak u aditiva Sugar Royal, které obsahuje látky N-P-K v poměru 9-0-0, nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly oproti ostatním typům výživy. Cockson et al. (2020) publikovali studii, ve které se zabývají vlivem fosforu ve výživě na obsah terpenických látek v konopí. Z jejich výsledků vyplývá, že fosfor nemá významný vliv na obsah terpenů/terpenoidů v konopí. Což je v rozporu s našimi výsledky. Zvětšené výnosy však mohly způsobit jiné látky obsažené v živných roztocích C a D, jako například aminokyseliny.

Studii zaměřenou na obsah sekundárních metabolitů ovlivněný přidáním aminokyselinových aditiv do živného roztoku publikoval Malík et al. (2022), kde výsledky naznačují, že přidání těchto aditiv má vliv na zvýšení koncentrace β -myrcenu a limonenu v sušeném květenství. Ostatními terpenickými látkami se však tato studie nezabývala. Také naše práce potvrdila, že obsah β -myrcenu a limonenu se po přidání aditiv s obsahem aminokyselin zvýšil.

6.2 Termín sklizně

Vliv termínu sklizně popsali ve své studii na třech různých odrůdách konopí také Darby & Bruce (2020). Jako látky, které nevykazovaly významné rozdíly v koncentracích označili mimo jiné β -pinen a α -bisabolol, což se shoduje také s našimi výsledky, kdy jsme u těchto látek nepozorovali statisticky významný rozdíl v koncentracích v závislosti na termínu sklizně. Mezi různými odrůdami konopí jsou významné rozdíly jak v profilu terpenů/terpenoidů, tak v jejich koncentracích v závislosti na termínu sklizně. Je tedy velmi obtížné porovnávat různé odrůdy mezi sebou. Stejně tak se může lišit i profil a koncentrace terpenických látek v jedné odrůdě v závislosti na sklizni a následné manipulaci s materiálem a to proto, že terpeny/terpenoidy jsou vysoce těkavé látky. Jednu z odrůd ve své studii Darby & Bruce (2020) sklízeli v podobných týdnech kvetení jako při našem pokusu, tedy 8., 9., 10. a 11. týdnem. Většina identifikovaných terpenů/terpenoidů měla nejvyšší koncentrace při první sklizni, tedy v 8. týdnu. Tento výsledek byl vyhodnocen i v našem pokusu, kdy v 8. týdnu kvetení byly zaznamenány jedny z nejvyšších koncentrací β -karyofylenu, α -humulenu a nerolidolu. Některé terpenické látky zmíněné ve studii Darby & Bruce (2020) dosahovaly nejvyšších koncentrací až v posledním termínu sklizně, tedy v 11. týdnu. Vzhledem k tomu, že v našem pokusu byly zaznamenány statisticky významné rozdíly pouze u koncentrací třech látek můžeme se při výběru ideálního termínu sklizně zaměřit na jiné parametry, jako je například obsah kanabinoidních látek nebo celková výnosnost. Pokud bychom se chtěli zaměřit na kanabinoidy, tak Crispim Massuela et al. (2022) ve své studii určily jako optimální dobu sklizně 9. týden kvetení s ohledem na celkový obsah CBD. V tomto týdnu byly námi také potvrzeny jedny z největších koncentrací terpenických látek. Průměrná hmotnost sušeného květenství rostla od 5. až do 11. týdne, kdy byla nejvyšší (Crispim Massuela et al. 2022).

6.3 Terpenické látky

Limonen a β -myrcen se v našem pokusu vyskytovaly v největším zastoupení. Lewis et al. (2018) ve svém článku uvádí, že myrcen je nejrozšířenějším terpenem v moderních chemovarech konopí v Evropě i v USA, proto jeho vyšší obsah není překvapující. Jako příklad vysoké koncentrace myrcenu je uváděn chemovar „Harlequin“, který při testování vykazoval koncentraci myrcenu 0,45 % z celkového podílu terpenů 1,1 %.

Ani vyšší obsah limonenu nebyl překvapením, protože se jedná o jeden z nejběžnějších monoterpenů přirozeně se vyskytujících v přírodě. Jeho výskyt v léčebném konopí je zajištěn přínosem díky jeho prokázané chemopreventivní aktivitě proti mnoha typům rakoviny. Limonen je také používán k odstranění žlučových kamenů obsahujících cholesterol nebo ke zmírnění pálení žáhy, jak uvádí Sun (2007). Výsledky studie zveřejněné v roce 2021 také poprvé prokazují, že kombinace CBD a limonenu vyvolává zvýšení anxiolytického účinku. Synergie těchto dvou látek spolu s jejich bezpečnostním profilem naznačuje jejich možné využití jako doplňků současných léků proti úzkosti nebo jejich přírodní alternativní náhrada (Jayawardena 2021).

Velmi nízký, nebo dokonce žádný výskyt byl pozorován u α -bisabololu a fenesolu. Nízké koncentrace bisabololu jsou překvapivé, protože Janatová et al. (2022) označili bisabolol jako jednu z majoritních látek obsaženou ve všech ze šesti zkoumaných genotypů. (Hanusš & Hod

2020) však ve své studii zmiňují, že existuje velké množství chemotypů konopí s různými obsahy terpenů/terpenoidů a že hlavní těkavé látky se mnohou navzájem velmi liší.

Nízký obsah farnesolu je patrný i ze studie, kterou publikovali Janatová et. al (2022). V některých genotypech taktéž, jako v našem pokusu, nebyl farnesol identifikován vůbec.

V závislosti na termínu sklizně jsme pozorovaly statisticky významný podíl v koncentraci α -humulenu, β -karyofylenu a nerolidolu. Hadri et al. (2010) identifikovali α -humulen také v esenciálním oleji z listů *Salvia officinalis*. Při prováděných pokusech vykazoval α -humulen vysokou cytotoxicitu u buněk kolorektálního adenokarcinomu a buněk melanomu prsu. Výsledky studie provedené Sylvestre et al. (2007) naznačují, že právě seskviterpeny jako je nerolidol a α -humulen se podílejí na cytotoxickém účinku silice *Comptonia peregrina*. V této studii byla hodnocena a potvrzena cytotoxicita nerolidolu a α -humulenu proti buněčné linii lidského karcinomu plic a adenokarcinomu tlustého střeva.

Na základě zjištěných výsledků by tedy bylo možné doporučit genotyp McLove mimo jiné při léčbě výše zmíněných karcinomů.

7 Závěr

Cílem této práce bylo stanovit optimální termín sklizně a vhodnou výživu na základě zjištěných obsahů terpenických látek v sušeném květenství konopí. Na základě naměřených výsledků a jejich následného porovnání s existující literaturou se nám podařilo potvrdit první hypotézu, že nejvyšší obsah terpenických látek je v 7. – 9. týdnu generativní fáze. Mezi týdny sklizně v závislosti na obsahu terpenických látek nejsou až na výjimky, kterými jsou β -karyofylen, α -humulen a nerolidol, statisticky významné rozdíly. Proto je vhodné při plánování termínu sklizně přihlídnout také k obsahu kanabinoidních látek a celkovému výnosu sušeného květenství. Stejně jako potvrzuje literatura, dospěli jsem k závěru, že nelze stanovit přesný termín sklizně léčebného konopí, ve kterém bude koncentrace terpenických látek nejvyšší. Pro každou odrůdu je vhodnější jiný termín sklizně a vliv na obsah terpenů/terpenoidů má také postup sklizně a další manipulace s materiálem. Pro náš genotyp McLove bychom z hlediska koncentrace terpenických látek zvolily ke sklizni 8. – 9. týden kvetení.

Podařilo se nám potvrdit také druhou hypotézu, která říká, že přidáním aditiv do hydroponického živného roztoku lze ovlivnit obsah terpenických látek v léčebném konopí. Nejvyšší koncentrace terpenů/terpenoidů jsme pozorovali u typu výživy C a D. Tedy u živných roztoků, do kterých byly kromě hydroponických hnojiv Hydro A a Hydro B s majoritními prvky N, P a K, přidána také aditiva s obsahem aminokyselin.

Problematika vlivu aminokyselin ve výživě konopí v závislosti na jeho obsahu aktivních látek je chybějícím článkem v odborné literatuře. Na základě této práce můžeme předpokládat, že aditiva s přísadkou aminokyselin, vitaminů a stopových prvků mají vliv na obsah terpenických látek v léčebném konopí. Přesný vztah mezi nutričními aditivami a obsahy terpenických látek však zůstává nejasný. Terpeny/terpenoidy mají velký potenciál v léčbě různých onemocnění, přestože jsou často opomíjeny. Vliv kanabinoidů na člověka je v dnešní době v literatuře popsán více podrobně než vliv terpenických látek. Pro úplné pochopení této problematiky je potřeba provést další studie.

8 Literatura

Adams P. 2012. Weedology. Positive Publishers, Nizozemsko.

Adebisi Y, Olaoye D. 2022. Medical Use of Cannabis in Africa: The Pharmacists' Perspective. *INNOVATIONS in pharmacy* **13**:8–8.

Arnold JC, Nation T, McGregor IS. 2020. Prescribing medicinal cannabis. *Australian Prescriber* **43**:152–159.

Blaskovich MAT et al. 2021. The antimicrobial potential of cannabidiol. *Communications Biology* **4**:1–18. Nature Publishing Group.

Bloomfield MAP, Ashok AH, Volkow ND, Howes OD. 2016. The effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol on the dopamine system. *Nature* **539**:369–377. Nature Publishing Group.

Boggs DL, Nguyen JD, Morgenson D, Taffe MA, Ranganathan M. 2018. Clinical and Preclinical Evidence for Functional Interactions of Cannabidiol and Δ^9 -Tetrahydrocannabinol. *Neuropsychopharmacology* **43**:142–154. Nature Publishing Group.

Booth JK, Bohlmann J. 2019. Terpenes in *Cannabis sativa* – From plant genome to humans. *Plant Science* **284**:67–72.

Booth JK, Page JE, Bohlmann J. 2017. Terpene synthases from *Cannabis sativa*. *PLOS ONE* **12**:e0173911. Public Library of Science.

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**. Available from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.00958> (accessed March 9, 2022).

Cockson P, Schroeder-Moreno M, Veazie P, Barajas G, Logan D, Davis M, Whipker BE. 2020. Impact of Phosphorus on *Cannabis sativa* Reproduction, Cannabinoids, and Terpenes. *Applied Sciences* **10**:7875. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Crispim Massuela D, Hartung J, Munz S, Erpenbach F, Graeff-Hönninger S. 2022. Impact of Harvest Time and Pruning Technique on Total CBD Concentration and Yield of Medicinal Cannabis. *Plants* **11**:140. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Crocq M-A. 2020. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues in Clinical Neuroscience* **22**:223–228.

Danziger N, Bernstein N. 2021. Light matters: Effect of light spectra on cannabinoid profile and plant development of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products* **164**:113351.

Darby H, Bruce J. 2020. Hemp Flower Harvest Date. Northwest Crops & Soils Program. Available from <https://scholarworks.uvm.edu/nwcsp/418>.

De Petrocellis L, Ligresti A, Moriello AS, Allarà M, Bisogno T, Petrosino S, Stott CG, Di Marzo V. 2011. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *British Journal of Pharmacology* **163**:1479 - 1494.

ecoideaz. 2021, January 12. Choosing the Right Kind of Hydroponics Systems for your Plants. Available from <https://www.ecoideaz.com/expert-corner/choosing-the-right-kind-of-hydroponics-systems-for-your-plants> (accessed April 14, 2022).

El-Kazzaz A. 2017. Soilless Agriculture a New and Advanced Method for Agriculture Development: an Introduction. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal* **3**.

ElSohly MA, Radwan MM, Gul W, Chandra S, Galal A. 2017. Phytochemistry of Cannabis sativa L. Pages 1–36 in Kinghorn AD, Falk H, Gibbons S, Kobayashi J, editors. *Phytocannabinoids: Unraveling the Complex Chemistry and Pharmacology of Cannabis sativa*. Springer International Publishing, Cham. Available from https://doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_1 (accessed March 27, 2022).

Farag S, Kayser O. 2017. Chapter 1 - The Cannabis Plant: Botanical Aspects. Pages 3–12 in Preedy VR, editor. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies*. Academic Press, San Diego. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128007563000016> (accessed February 22, 2022).

Folina A, Roussis I, Kouneli V, Kakabouki I, Karydogianni S, Bilalis D. 2019. Opportunities for Cultivation of Medical Cannabis (*Cannabis sativa* L.) in Greece.

Gonçalves ECD, Baldasso GM, Bicca MA, Paes RS, Capasso R, Dutra RC. 2020. Terpenoids, Cannabimimetic Ligands, beyond the Cannabis Plant. *Molecules* **25**:1567. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Goullé J-P, Saussereau E, Lacroix C. 2008. Pharmacocinétique du delta-9-tétrahydrocannabinol (THC). *Annales Pharmaceutiques Françaises* **66**:232–244.

Grotenhermen F. 2005. Cannabinoids. *Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders* **4**:507–530.

Gülck T, Møller BL. 2020. Phytocannabinoids: Origins and Biosynthesis. *Trends in Plant Science* **25**:985–1004.

Hadri A, Rio M, Sanz J, Coloma A, Idaomar M, Ozonas B, Benedi J, Reus M. 2010. Cytotoxic activity of alpha-humulene and trans-caryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* **76**:343–356.

Hand A, Blake A, Kerrigan P, Samuel P, Friedberg J. 2016. History of medical cannabis. *Journal of Pain Management* **9**:387–394. Nova Science Publishers, Inc.

Hanuš LO. 2012. Endogenní kanabinoidy, receptory, fyziologické role. *Revue České lékařské akademie* **8**:8–12.

Hanuš LO, Hod Y. 2020. Terpenes/Terpenoids in Cannabis: Are They Important? *Medical Cannabis and Cannabinoids* **3**:25–60. Karger Publishers.

Ibrahim EA et al. 2019. Analysis of Terpenes in Cannabis sativa L. Using GC/MS: Method Development, Validation, and Application. *Planta Medica* **85**:431–438. Georg Thieme Verlag KG.

Isidore E, Karim H, Ioannou I. 2021. Extraction of Phenolic Compounds and Terpenes from Cannabis sativa L. By-Products: From Conventional to Intensified Processes. *Antioxidants* **10**:942. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Janatová A, Doskočil I, Božik 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.

Jarvis S, Rassmussen S, Winters B. 2017. Role of the Endocannabinoid System and Medical Cannabis. *The Journal for Nurse Practitioners* **13**:525–531.

Jayawardena N. 2021. Characterizing the Anxiolytic Potential and Synergistic Efficacy of Cannabidiol and d-limonene. *Electronic Thesis and Dissertation Repository*. Available from <https://ir.lib.uwo.ca/etd/7654>.

Jin D, Jin S, Chen J. 2019. Cannabis Indoor Growing Conditions, Management Practices, and Post-Harvest Treatment: A Review. *American Journal of Plant Sciences* **10**:925. Scientific Research Publishing.

Kendall DA, Yudowski GA. 2017. Cannabinoid Receptors in the Central Nervous System: Their Signaling and Roles in Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience* **10**. Available from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2016.00294> (accessed March 5, 2022).

Landa L, Jan J, kolektiv a. 2020. *Léčebné konopí v současné medicínské praxi*. Grada Publishing, a.s.

LaVigne JE, Hecksel R, Keresztes A, Streicher JM. 2021. Cannabis sativa terpenes are cannabimimetic and selectively enhance cannabinoid activity. *Scientific Reports* **11**:8232. Nature Publishing Group.

Lewis MA, Russo EB, Smith KM. 2018. Pharmacological Foundations of Cannabis Chemovars. *Planta Medica* **84**:225–233. Georg Thieme Verlag KG.

Li H-L. 1974. An Archaeological and Historical Account of Cannabis in China. *Economic Botany* **28**:437–448. New York Botanical Garden Press.

Liu Y, Liu H-Y, Li S-H, Ma W, Wu D-T, Li H-B, Xiao A-P, Liu L-L, Zhu F, Gan R-Y. 2022. Cannabis sativa bioactive compounds and their extraction, separation, purification, and identification technologies: An updated review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **149**:116554.

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

- Lu H-C, Mackie K. 2021. Review of the Endocannabinoid System. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging* **6**:607–615.
- Malík M, Velechovský J, Tlustoš P. 2021. The overview of existing knowledge on medical cannabis plants growing. *Plant, Soil and Environment* **67 (2021)**:425–442.
- McPartland JM. 2018. Cannabis Systematics at the Levels of Family, Genus, and Species. *Cannabis and Cannabinoid Research* **3**:203–212. Mary Ann Liebert, Inc., publishers.
- Mechoulam R, Peters M, Murillo-Rodriguez E, Hanuš LO. 2007. Cannabidiol – Recent Advances. *Chemistry & Biodiversity* **4**:1678–1692.
- Micalizzi G, Vento F, Alibrando F, Donnarumma D, Dugo P, Mondello L. 2021. Cannabis Sativa L.: a comprehensive review on the analytical methodologies for cannabinoids and terpenes characterization. *Journal of Chromatography A* **1637**:461864.
- Ministerstvo zdravotnictví a Ministerstvo zemědělství. 2020. Vyhláška č. 307 ze dne 23. června 2020, kterou se mění vyhláška č. 236/2015 Sb., o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné účely. Pages 3146-3151 in *Sbírka zákonů České republiky, 2020, částka 121*. Česká republika.
- Ministerstvo zdravotnictví. 2021. Vyhláška č. 522 Sb. ze dne 16. prosince 2021, kterou se mění vyhláška č. 329/2019 Sb., o předepisování léčivých přípravků při poskytování zdravotních služeb, ve znění vyhlášky č. 53/2020 Sb. Pages 6922-6926 in *Sbírka zákonů České republiky, 2021, částka 227*. Česká republika.
- Miovský M, kolektiv a. 2008. Konopí a konopné drogy: Adiktologické kompendium. Grada Publishing a.s.
- Modu F, Adam A, Aliyu F, Mabu A, Alhaji Musa M. 2020. A Survey of Smart Hydroponic Systems. *Advances in Science, Technology and Engineering Systems Journal* **5**:233–248.
- Monthony AS, Page SR, Hesami M, Jones AMP. 2021. The Past, Present and Future of Cannabis sativa Tissue Culture. *Plants* **10**:185. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Mr. José. 2012. Jak pěstovat „INDOOR“. Josef Krejčík, Plzeň.
- Nuutinen T. 2018. Medicinal properties of terpenes found in Cannabis sativa and Humulus lupulus. *European Journal of Medicinal Chemistry* **157**:198–228.
- Pisanti S et al. 2017. Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacology & Therapeutics* **175**:133–150.
- Poslanecká sněmovna Parlamentu. 2021. Zákon č. 366 ze dne 14. září 2021, kterým se mění zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 SB., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. Pages 4505-4524 in *Sbírka zákonů České republiky, 2021, částka 162*. Česká republika.

Punja ZK. 2021. Emerging diseases of Cannabis sativa and sustainable management. *Pest Management Science* **77**:3857–3870.

Radwan MM, Chandra S, Gul S, ElSohly MA. 2021. Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis. *Molecules* **26**:2774. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Radwan MM, Wanas AS, Chandra S, ElSohly MA. 2017. Natural Cannabinoids of Cannabis and Methods of Analysis. Pages 161–182 in Chandra S, Lata H, ElSohly MA, editors. *Cannabis sativa L. - Botany and Biotechnology*. Springer International Publishing, Cham. Available from https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_7 (accessed March 20, 2022).

Richins RD, Rodriguez-Uribe L, Lowe K, Ferral R, O’Connell MA. 2018. Accumulation of bioactive metabolites in cultivated medical Cannabis. *PLOS ONE* **13**:e0201119. Public Library of Science.

Roell M-S. 2020. Terpenes in Cannabis: Solving the Puzzle of How to Predict Taste and Smell. *Plant Physiology* **184**:8–9.

Russo EB, Marcu J. 2017. Chapter Three - Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. Pages 67–134 in Kendall D, Alexander SPH, editors. *Advances in Pharmacology*. Academic Press. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1054358917300273> (accessed March 5, 2022).

Saloner A, Bernstein N. 2021. Nitrogen supply affects cannabinoid and terpenoid profile in medical cannabis (*Cannabis sativa L.*). *Industrial Crops and Products* **167**:113516.

Sionov RV, Steinberg D. 2022. Anti-Microbial Activity of Phytocannabinoids and Endocannabinoids in the Light of Their Physiological and Pathophysiological Roles. *Biomedicines* **10**:631. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. 2020. The Cannabis Terpenes. *Molecules* **25**:5792. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Státní agentura pro konopí pro léčebné použití. 2022. Statistika výdejů konopí pro léčebné účely. Available from <https://www.sakl.cz/konopi/statistika-vydeje-konopi/> (accessed March 2022).

Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2010. SÚKL. Available from <https://www.sukl.cz/konopi-k-lecebny-m-ucelum> (accessed February 2022).

Sun J. 2007. D-Limonene: Safety and Clinical Applications **12**:6.

Surendran S, Qassadi F, Surendran G, Lilley D, Heinrich M. 2021. Myrcene—What Are the Potential Health Benefits of This Flavouring and Aroma Agent? *Frontiers in Nutrition* **8**. Available from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnut.2021.699666> (accessed March 19, 2022).

Sylvestre M, Pichette A, Lavoie S, Longtin A, Legault J. 2007. Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina* (L.) Coulter. *Phytotherapy Research* **21**:536–540.

Thakulla D., Dunn B., Hu B. 2021. Oklahoma State University Extension. Oklahoma State University. Available from <https://extension.okstate.edu/fact-sheets/soilless-growing-mediums.html> (accessed March 2022).

Touw M. 1981. The Religious and Medicinal Uses of Cannabis in China, India and Tibet. *Journal of Psychoactive Drugs* **13**:23–34. Taylor & Francis.

Zeman P. 2012. Využívání konopí pro léčebné účely z pohledu práva. *Revue České lékařské akademie* **8**:34–36.

Zielonka DM, Kiraga Ł, Kozłowski RM. 2020. 12 - Medical potential of cannabis: an overview. Pages 419–448 in Kozłowski RM, Mackiewicz-Talarczyk M, editors. *Handbook of Natural Fibres (Second Edition)*. Woodhead Publishing. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128187821000122> (accessed March 5, 2022).

Zuardi AW. 2006. History of cannabis as a medicine: a review. *Brazilian Journal of Psychiatry* **28**:153–157. Associação Brasileira de Psiquiatria.

Zuk-Golaszewska K, Golaszewski J. 2018. Cannabis sativa L. – cultivation and quality of raw material. *Journal of Elementology* **23**. Available from <http://agro.icm.edu.pl/agro/element/bwmeta1.element.agro-48f2c64d-7580-495b-b6d0-970ce45371e3> (accessed March 6, 2022).

Żuk-Gołaszewska K, Gołaszewski J. 2020. Hemp Production. Pages 1–36 in Crini G, Lichtfouse E, editors. *Sustainable Agriculture Reviews 42: Hemp Production and Applications*. Springer International Publishing, Cham. Available from https://doi.org/10.1007/978-3-030-41384-2_1 (accessed March 13, 2022).

9 Seznam a použité zdroje obrázků a tabulek

Obrázek 1: Rozdíly ve stavbě rostliny (McPartland 2018).

Obrázek 2: Chemická struktura dvou hlavních endokannabinoidů (Di Marzo et al. 2002).

Obrázek 3: Keramzitové kamínky (Thakulla et al. 2021).

Obrázek 4: Kokosové vlákno (Thakulla et al. 2021).

Obrázek 5: Minerální vlna (Thakulla et al. 2021).

Obrázek 6: Porovnání různých hydroponických systémů (Ecoideaz 2021)

Obrázek 7: Znázornění drah syntézy monoterpenů a seskviterpenů (Roell 2020).

Obrázek 8: Chemická struktura některých monoterpenů (Russo & Marcu 2017).

Obrázek 9: Chemická struktura některých seskviterpenů (Russo & Marcu 2017).

Obrázek 10: Chemická struktura Δ^9 -THC (Mechoulam et al. 2007).

Obrázek 11: Chemická struktura CBD (Mechoulam et al. 2007).

Obrázek 12: Extrahovaný materiál po centrifugaci (foto autorka).

Obrázek 13: Vzorek po filtraci připravený na následné analýzy (foto autorka).

Tabulka 1: Seznam indikací a specializovaných způsobů léčby pro předepisování konopí pro léčebné účely (SÚKL)

Tabulka 2: Druhy konopí, které lze využít v České republice k léčebným účelům a množství povolených obsahových látek (SAKL 2022).

Tabulka 3: Složení živného roztoku v prvním typu výživy (A).

Tabulka 4: Složení živného roztoku v druhém typu výživy (B).

Tabulka 5: Složení živného roztoku ve třetím typu výživy (C).

Tabulka 6: Složení živného roztoku ve čtvrtém typu výživy (D).

Tabulka 7: Parametry analýz terpenických látek v konopných extraktech.

Tabulka 8: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro první cyklus (α -pinen – β -karyofylen).

Tabulka 9: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro první cyklus (α -humulen – farnesol).

Tabulka 10: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro druhý cyklus (α -pinen – β -karyofylen).

Tabulka 11: Průměrný obsah terpenických látek se směrodatnou odchylkou pro druhý cyklus (α -humulen – farnesol).

