

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality a bezpečnosti potravin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Antimikrobiální aktivita různých genotypů konopí  
(*Cannabis sativa* L.) vhodných pro léčebné použití**

**Diplomová práce**

**Bc. Martin Káda**

**Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů**

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

© 2023 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Antimikrobiální aktivita různých genotypů konopí (*Cannabis sativa* L.) vhodných pro léčebné použití" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

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

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval své vedoucí práce Ing. Anežce Kosmákové Janatové, Ph.D. a Ing. Tomáši Skalovi, kteří mi byli pomocnou rukou jak při výzkumu, tak při psaní rešerše.

# Antimikrobiální aktivita různých genotypů konopí (*Cannabis sativa* L.) vhodných pro léčebné použití

## Souhrn

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) je už po tisíce let známá rostlina z čeledi konopovité. Jedná se o rostlinu, která má využití v mnoha průmyslových oblastech, jako například v textilní výrobě, potravinářství a medicíně.

Obrovským tématem je dnes antibiotická rezistence. Vlivem nadužívání antibiotik přibývá rezistentních kmenů bakterií a dalších mikroorganismů. Počet úmrtí po celém světě na tyto tyto rezistentní kmeny bakterií v roce 2019 se odhaduje na 1,2 milionu lidí a předpokládá se, že toto číslo bude stoupat. Tyto alarmující informace přináší potřebu zkoumat nové zdroje antimikrobiálních látek. Jedním z nadějných zdrojů tohoto typu látek je právě konopí.

Nositeli antimikrobiální aktivity konopí jsou především terpenické látky a fytoKANABINOIDY, tuto aktivitu podporují jejich vzájemné synergické účinky. V současné době je většina zástupců těchto látek otestována na antimikrobiální účinky. Nicméně i díky legislativní náročnosti chybí evaluace jednotlivých genotypů konopí v tomto ohledu. Proto se práce zaměřuje na testování extraktů z genotypů léčebného konopí, nikoli na samostatné látky.

Testováno bylo devět extraktů léčebného konopí mikrodiluční metodou, konkrétněji pět fenotypově odlišných genotypů Forbidden Fruit (2,3,5,6,8) a dále genotypy Nurse Jackie 1, CBD Caramel 6, Blueberry 3, Shaman 5. Pro experiment byly zvoleny čtyři bakterie způsobující kožní onemocnění rodu *Staphylococcus* (*S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, dva kmeny *S. aureus*). Jako srovnávací antibiotikum byl použit chloramfenikol.

Konopné extrakty prokázaly značnou schopnost inhibovat bakterie v podmínkách in vitro (nejčastější MIC 8 µg/ml). Mezi genotypy nebyly příliš velké rozdíly v antimikrobiální aktivitě. Mírně horších výsledků dosahoval genotyp CBD Caramel, naopak genotyp Nurse Jackie s vyšším obsahem Δ9-THC měl o něco lepší inhibiční vlastnosti. V porovnání s antibiotikem chloramfenikolem byly extrakty více účinné na zlaté stafylokoky, než na bakterie *S. lugdunensis* a *S. saprophyticus*. Tato práce přinesla příznivé informace o antimikrobiální aktivitě konopí a naznačila jeho možné využití v boji s bakteriemi způsobující kožní onemocnění.

**Klíčová slova:** Konopí seté, antimikrobiální aktivita, extrakt, kožní onemocnění

# Antimicrobial activity of different genotypes of cannabis (*Cannabis sativa* L.) suitable for medicinal use

## Summary

Cannabis (*Cannabis sativa* L.) has been a well-known plant of the *Cannabaceae* family for thousands of years. It is a plant that has many industrial uses, such as textile production, food processing and medicine.

Antibiotic resistance is a huge issue today. Resistant strains of bacteria and other microorganisms are increasing due to the overuse of antibiotics. The number of deaths worldwide from these resistant strains of bacteria in 2019 is estimated at 1.2 million people and this number is expected to rise. This alarming information brings about the need to explore new sources of antimicrobial agents. One promising source of this type of substance is cannabis.

The carriers of the antimicrobial activity of cannabis are mainly terpenic substances and phytocannabinoids, this activity is supported by their mutual synergistic effects. Currently, most representatives of these substances have been tested for antimicrobial effects. However, due to the legislative requirements, there is a lack of evaluation of individual cannabis genotypes in this respect. Therefore, the focus of this work is on testing extracts from medicinal cannabis genotypes rather than on single substances.

Nine extracts of medicinal cannabis were tested by the microdilution method, specifically five phenotypically distinct genotypes of Forbidden Fruit (2,3,5,6,8) and the genotypes Nurse Jackie 1, CBD Caramel 6, Blueberry 3, Shaman 5. Four bacteria causing skin diseases of the genus *Staphylococcus* (*S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, two strains of *S. aureus*) were chosen for the experiment. Chloramphenicol was used as a comparative antibiotic.

Cannabis extracts showed a significant ability to inhibit bacteria under in vitro conditions (most common MIC 8 µg/ml). There were no major differences in antimicrobial activity between genotypes. The CBD Caramel genotype performed slightly worse, whereas the Nurse Jackie genotype with higher  $\Delta^9$ -THC content had slightly better inhibitory properties. Compared to the antibiotic chloramphenicol, the extracts were more effective against golden staphylococci than against *S. Lugdunensis* and *S. saprophyticus*. This work provided favorable information on the antimicrobial activity of cannabis and suggested its possible use in combating bacteria causing skin diseases.

**Keywords:** Cannabis, antimicrobial activity, extract, skin diseases

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1 Taxonomie konopí</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2 Botanika konopí</b> .....	<b>11</b>
<b>3.3 Historie konopí</b> .....	<b>12</b>
3.3.1 Období před Kristem .....	12
3.3.2 Období od počátku křesťanství po 18. století.....	12
3.3.3 Západní medicína 19. a 20. století .....	13
<b>3.4 Legislativa konopí</b> .....	<b>13</b>
3.4.1 Legislativa České republiky .....	13
<b>3.5 Biologicky aktivní látky konopí</b> .....	<b>14</b>
3.5.1 Kanabinoidy .....	14
3.5.2 Terpenické sloučeniny konopí .....	18
3.5.3 Flavonoidy.....	21
<b>3.6 Využití konopí v medicíně</b> .....	<b>22</b>
3.6.1 Endokanabinoidní systém.....	22
3.6.2 Chronická bolest.....	23
3.6.3 Nevolnost a zvracení .....	23
3.6.4 Křeče .....	23
3.6.5 Gastrointestinální onemocnění .....	24
<b>3.7 Antibakteriální účinky konopí</b> .....	<b>24</b>
3.7.1 Účinky biologicky aktivních látek konopí na grampozitivní bakterie .....	25
3.7.2 Účinky biologicky aktivních látek konopí na gramnegativní bakterie.....	25
<b>3.8 Bakteriální rezistence na antibiotika</b> .....	<b>26</b>
3.8.1 Selekční tlak .....	27
<b>3.9 Bakterie způsobující kožní onemocnění</b> .....	<b>27</b>
3.9.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
3.9.2 <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	28
3.9.3 <i>Staphylococcus lugdunensis</i> .....	28
3.9.4 <i>Staphylococcus saprophyticus</i> .....	29
<b>4 Metodika</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1 Materiály a chemikálie</b> .....	<b>30</b>
4.1.1 Rostlinný materiál .....	30
4.1.2 Kmeny použitých bakterií .....	31

4.1.3	Chemikálie pro testování mikrobiální aktivity .....	32
<b>4.2</b>	<b>Metody .....</b>	<b>32</b>
4.2.1	Metody přípravy rostlinného materiálu.....	32
4.2.2	Metody testování antimikrobiální aktivity .....	34
4.2.3	Vyhodnocení .....	35
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>36</b>
5.1	Hmotnost sklizně sušeného květenství jedlotlivých genotypů (g) .....	36
5.2	Minimální inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus lugdunensis</i> (kmen 4069) 37	
5.3	Minimální inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (kmen 2727) 37	
5.4	Minimální inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus aureus</i> (kmen 29213) .....	38
5.5	Minimální inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus aureus</i> (kmen 25923) .....	38
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>40</b>
6.1	Antibakteriální aktivita konopných extraktů .....	40
6.2	Účinnost chloramfenikolu .....	41
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>43</b>
<b>8</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>44</b>
<b>9</b>	<b>Seznam obrázků a tabulek.....</b>	<b>54</b>

# 1 Úvod

První dochované zmínky o konopí pochází už z doby 2700 př.n.l. z oblasti dnešní Číny, kde byla využívána pro léčbu nejrůznějších nemocí od poruchy ženského reprodukčního systému, až po léčbu malárie (Touw 1981). Odtud se pravděpodobně rozšířila přes střední Asii pomocí Skythských nájezdníků až do Evropy ještě před Kristem. Nicméně až v 19. století začaly vznikat první modernější publikace o jeho léčebných účincích a po první konferenci, na téma konopí v Ohiu, začalo jeho intenzivní zkoumání. V tuto dobu mělo význam především pro tlumení průběhu nemocí jako je vzteklna, tetanus a cholera (Zuardi 2006).

Vzhledem k stále zvětšujícímu se počtu rezistentních bakterií vzniká potřeba hledání nových zdrojů antimikrobiálních látek. Jak u fytokanabinoidů, tak i terpenických látek byla prokázána tato aktivita, a proto je třeba dalšího zkoumání těchto relativně nevyužitých zdrojů (Aslam et al. 2018).

Nejnámějšími fytokanabinoidy jsou  $\Delta$ 9-THC a kanabinol (CBD), avšak v poslední době roste zájem vědecké komunity také o kanabigerol (CBG) a další účinné látky v jejich vzájemné synergii (Mechoulam & Ben-Shabat 1999). CBD společně s terpenickými látkami například tlumí negativní účinky  $\Delta$ 9-THC jako je úzkost a ztráta paměti. Při podávání čistého  $\Delta$ 9-THC jsou účinky spíše dysforické, avšak ve směsi s ostatními látkami se mění na euforické. Tato zjištění jsou zásadní pro využití konopí k léčbě nejrůznějších onemocnění a poskytují řešení pro lidi, kteří po užití  $\Delta$ 9-THC zažívají nepříjemné stavy mysli (Mechoulam 2012).

Ve výzkumu této diplomové práce se budu zaměřovat právě na antibakteriální aktivitu ethanolových extraktů získaných z léčebných genotypů konopí, které obsahují komplexní spektrum biologicky aktivních látek. Obsah biologicky aktivních látek těchto genotypů je popsán v závěrečné práci mého kolegy Bc. Davida Faigla. V několika studiích bylo prokázáno, že tyto látky mají schopnost inhibovat rezistentní kmeny bakterií, či podporovat inhibici antibiotiky. Antibakteriální aktivita bude testována pomocí mikrodiluční metody na bakteriích způsobujících kožní onemocnění.



## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Cílem práce bylo ověřit hypotézu, že ethanolové extrakty z různých genotypů konopí inhibují nebo ovlivňují růst mikroorganismů, které způsobují kožní onemocnění a poté porovnat jejich účinnost s antibiotiky. Druhým cílem bylo určit genotyp léčebného konopí s nejsilnější antimikrobiální aktivitou.

### 3 Literární rešerše

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) je jednou z nejstarších rostlin využívaných pro ekonomické účely. Jednou ze základních surovin získávaných z této rostliny je vlákno, které se využívá ke tkaní. Dalšími produkty jsou jedlá semena (viz obr. 1), ze kterých může být lisován olej a pryskyřice, která obsahuje fytoKANABINODY a terpenické látky. Vlivem různého podnebí v oblastech růstu konopí vzniklo široké spektrum genotypů, které byly dále rozvíjeny šlechtěním na různé znaky, jako je vysoký obsah fytoKANABINOIDŮ. Právě tyto genotypy bohaté na fytoKANABINOIDY jsou využívány v medicíně, kde mají široké využití (Russo 2013).



Obr. 1 Konopí (převzato Bonini et al. 2018)

#### 3.1 Taxonomie konopí

Konopí seté je systematicky zařazeno do krytosemenných rostlin (*Magnoliophyta*), dále pak do třídy vyšších dvouděložných (*Rosopsida*), řádu růžotvárných (*Rosales*), čeledi konopovitých (*Cannabaceae*), kterou obývá společně s chmelem otáčivým (*Humulus Lupulus*), který je také využíván jako významná hospodářská plodina. Konopí seté pak spadá do rodu konopí (*Cannabis*) (Sytsma et al. 2002). Vzhledem k tomu, že je konopí seté známé pro lidi tisíce let, vzniklo v průběhu lidských dějin mnoho genotypů konopí. Avšak vznik nových genotypů nese i problémy spojené s klasifikací. V současné době neexistuje jednotná shoda na klasifikaci genotypů v rámci rodu *Cannabis* (Farang & Kayser 2017). Původní systém klasifikace předpokládal, že v rámci rodu *Cannabis* existují tři druhy konopí, a to sice *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, *Cannabis ruderalis* (Hazekamp et al. 2010). Modernější řazení však považuje tyto 3 druhy za jeden druh a rozděluje je do poddruhů *C. sativa* L. subsp. *sativa* a *C. sativa* subsp. *indica* (Farang & Kayser 2017; Hazekamp et al. 2010).

### 3.2 Botanika konopí

Konopí seté je jednoletá dvoudomá rostlina. V prosluněných místech s dobře odvodněnou půdou bohatou na živiny roste velice rychle. Může dosáhnout výšky až 5 metrů za pouhých 6 měsíců. Často je jeho divoký výskyt spojen s lidmi, kdy lidské odlesňování poskytuje slunečné prostory jako jsou pole, břehy řek, pozemní komunikace a louky. Semena běžně klíčí od 3 do 7 dnů. V prvních měsících nastává bujný vegetativní růst. Vlivem zkracování dnů a prodloužení nocí nastává období květu a zakončení ročního cyklu. Jedná se o dvoudomou rostlinu, jedna rostlina tedy může produkovat pouze květy samčí či samičí (Zuardi 2006).

Konopné stonky jsou hranaté, zvrásněné a rozvětvené. Ze stonků vyrůstají dlaňovité listy, nejčastěji se sedmi laloky. Velikost listů se odvíjí od genotypu, obvykle jsou 6–11 cm dlouhé a 2–15 mm široké (Farag & Kayser 2017).

Rostliny samčí jsou ve vegetativní fázi nerozeznatelné od samičích, avšak v kvetení se vývoj rostlin začíná zřetelně lišit. Samčí květy volně visí ve shlucích z rostliny (viz obr.2) a jsou téměř neolistěné, zatímco samičí květy jsou husté a obalují samotné stonky. Samčí květy dozrávají dříve, následně uvolní pyl z pylových váčků, který dopadne na blizny samičí rostliny, a ta začne tvořit semena. Dozrání semen se liší podle genotypu, avšak běžná doba je 3–8 týdnů. V případě neopylení rostlina tvoří další samičí pohlavní orgány, což má za následek zvýšení obsahu fytoKANABINOIDŮ, taková rostlina je označována jako sinsemilla. Tohoto se využívá při produkci za účelem získání fytoKANABINOIDŮ (Russo, 2013). Preferovaný způsobem množení při takovéto produkci je řízkování matek, což zajišťuje zachování vybraného genotypu (Hazekamp et al. 2010). Největší obsah fytoKANABINOIDŮ a terpenických látek v rostlině mají žláznaté trichomy pokrývající palice (viz obr. 3) (Zuardi 2006).



Obr. 2 Samčí (A) a samičí (B) květy (převzato Bonini et al. 2018)



Obr. 3 Žláznaté trichomy (převzato Bonini et al. 2018)

### 3.3 Historie konopí

Konopí má pravděpodobně původ ve střední Asii u pohoří Altaj či Ťan-šan. Prvně bylo pěstováno v Číně okolo roku 4000 př.n.l. na vlákno a zanedlouho se rozšířilo do Indie (Hui-Lin Li 1974; Russo 2013).

#### 3.3.1 Období před Kristem

Svou oblibu si konopí v Číně získalo i pro svá nutričně hodnotná semena. První zmínka o konopí jako léku pochází z Číny a sahá až do období 2700 př.n.l., kde se s ním léčila revmatická bolest, střevní zácpa, porucha ženského reprodukčního systému, malárie a další (Touw 1981). Zároveň se zdroje zmiňují o psychoaktivních účincích, jako jsou halucinace při předávkování. V Indii bylo před Kristem velice široce rozšířeno jako lék i jako rekreační droga. Za jeho oblíbeností v Indii pravděpodobně stojí propojení s náboženstvím, kdy se rostlině připisovaly spirituální účinky. V náboženských indických textech je konopí zmíněno jako jedna z pěti posvátných rostlin, která přináší štěstí, radost a svobodu (Touw 1981).

Také do Evropy se konopí dostává ještě před Kristem prostřednictvím skythských nájezdníků původem ze střední Asie. V roce 450 př.n.l. popsal Herodotos skythský pohřeb, kdy při ceremoniálu účastníci inhalovali výpary ze semen za rituálními a euforickými účely. Tento popis byl potvrzen archeology, kteří našli zbytky semen ve skythských hrobkách v nynějším Německu (Zuardi 2006).

#### 3.3.2 Období od počátku křesťanství po 18. století

V tomto období zůstalo hojné využívání především v Indii a poté bylo rozšířeno na Blízký východ a do Afriky. Kolem roku 1000 se v Arábii lékaři ve svých kompendiích zmiňují o konopí. Zde se užívalo pro lepší trávení, proti nadýmání, bolesti uší a také k „čištění mozku“. Konopí je v Africe známé minimálně od 15. století a bylo sem pravděpodobně zavlečeno arabskými obchodníky. Afričané tuto přírodní medicínu užívali k usnadnění porodu, na hadí uštknutí, při otravě krve, malárii, proti astmatu a úplavici. Do Ameriky bylo zavlečeno v 16. století (Aldrich 1997; Fankhauser 2002).

### 3.3.3 Západní medicína 19. a 20. století

Již začátkem 19. století existují zmínky o užívání konopí jako léku, a to především semen. Nicméně opravdu známé se stalo až v polovině tohoto století, kdy lékaři Willian B. O'Shaughnessy a Jacques-Joseph Moreau tuto rostlinu zpopularizovali (Bonini et al. 2018; Moreau 1845; O'Shaughnessy 1839).

O'Shaughnessy se poprvé setkal s konopím během svého pobytu v Indii. Zde studoval literaturu o konopí, hodnotil toxicitu na zvířatech a později ho otestoval na pacientech s různými diagnózami. V roce 1839 vydal první publikaci, kde popsal úspěšné experimenty na pacientech s revmatem, a především s křečemi způsobenými vzteklinou a tetanem (Bonini et al. 2018; O'Shaughnessy 1839).

Lékař Moreu doprovázel psychiatrické pacienty na cestách do exotických krajín, kde si všimnul, že místní obyvatelstvo užívá hašiš. Účinky ho fascinovaly, a tak se rozhodl systematicky experimentovat nejdříve na sobě a poté na svých studentech. V roce 1845 vydal publikaci, kde popsal účinky konopí. Tyto publikace přispěly k využívání konopí pro pomoc při vzteklině, tetanu a choleře. Později se užívání rozšířilo z Anglie a Francie do zbytku Evropy a následně do Severní Ameriky. V roce 1860 se v Ohio konala první konference týkající se konopí, následně vzniklo více než 100 studií zabývajících se jeho léčivými účinky (Fankhauser 2002; Moreau 1845).

## 3.4 Legislativa konopí

Konopí je ve většině zemí světa nelegální pro rekreační účely, avšak v 21. století se v mnoha státech legalizuje pro léčebné účely, a to především v Evropě a USA. Jedním z prvních států, který umožnil užívání léčebného konopí je Izrael, a to už v roce 1993. V EU bylo první zemí Nizozemsko v roce 2003, následovalo Německo v roce 2008 a postupně ke zlegalizování přistoupily i další státy EU. V Kalifornii bylo povoleno užívání léčebného konopí v roce 1996. Konopí pro rekreační účely je legální například v Kanadě a některých státech USA jako je například Oregon (KOPAC 2019).

### 3.4.1 Legislativa České republiky

V České republice je užívání léčebného konopí na předpis povoleno zákonem č. 50/2013 Sb., který mění zákon č. 378/2007 Sb., zákon je doplněn o vyhlášku č. 307/2020 Sb., která doplňuje vyhlášku č. 236/2015 Sb. Vyhláška č. 236/2015 Sb. umožňuje odborně způsobilým lékařům předepisovat individuálně připravovaný léčebný přípravek pacientům starším 18 let. Na receptu musí být uveden druh konopí, procentuální obsahy  $\Delta 9$ -THC a kanabidiolu. Maximální předepsané množství na jeden recept musí odpovídat celkové měsíční dávce (Sbírka zákonů č. 236/2015). Vyhláška č. 307/2020 Sb. doplňuje vyhlášku č. 236/2015 Sb. o maximální obsahy kanabinoidů v konopí pro výrobu léčebných přípravků, a to sice minimálně 0,3 % až 25 % pro  $\Delta 9$ -THC a maximálně 23 % pro CBD (Sbírka zákonů č. 307/2020, s. 3146).

Licence pro pěstování léčebného konopí v ČR uděluje Státní agentura pro konopí pro léčebné účely (SAKL), která spadá pod Státní ústav pro kontrolu léčiv (SÚKL). Kromě udělování povolení a dozorování nad pěstováním zajišťuje i výkup konopí od českých producentů a jeho distribuci do lékáren. Tato agentura není zmocněna pro výkup konopí ze zahraničí, toto zajišťuje Ministerstvo zdravotnictví ČR. Konopí musí splňovat obsahy fytoKANABINOIDŮ a dané požadavky na kvalitu. Cena léčebného konopí v ČR není nijak regulována a odvíjí se od ceny výrobce (Státní agentura pro konopí pro léčebné použití; Státní ústav pro kontrolu léčiv).

### 3.5 Biologicky aktivní látky konopí

Mezi biologicky aktivní látky konopí se řadí nejen fytoKANABINOIDY, pro které je tato rostlina známá. Další významnou skupinou, která má důležitý vliv na účinky konopí, jsou terpenické látky zodpovědné za jeho vůni. Dále sem můžeme zařadit flavonoidy, jakožto látky působící proti oxidačnímu stresu a například karotenoidy a fytoSTEROLY (Mnekin & Ripoll 2021).

#### 3.5.1 Kanabinoidy

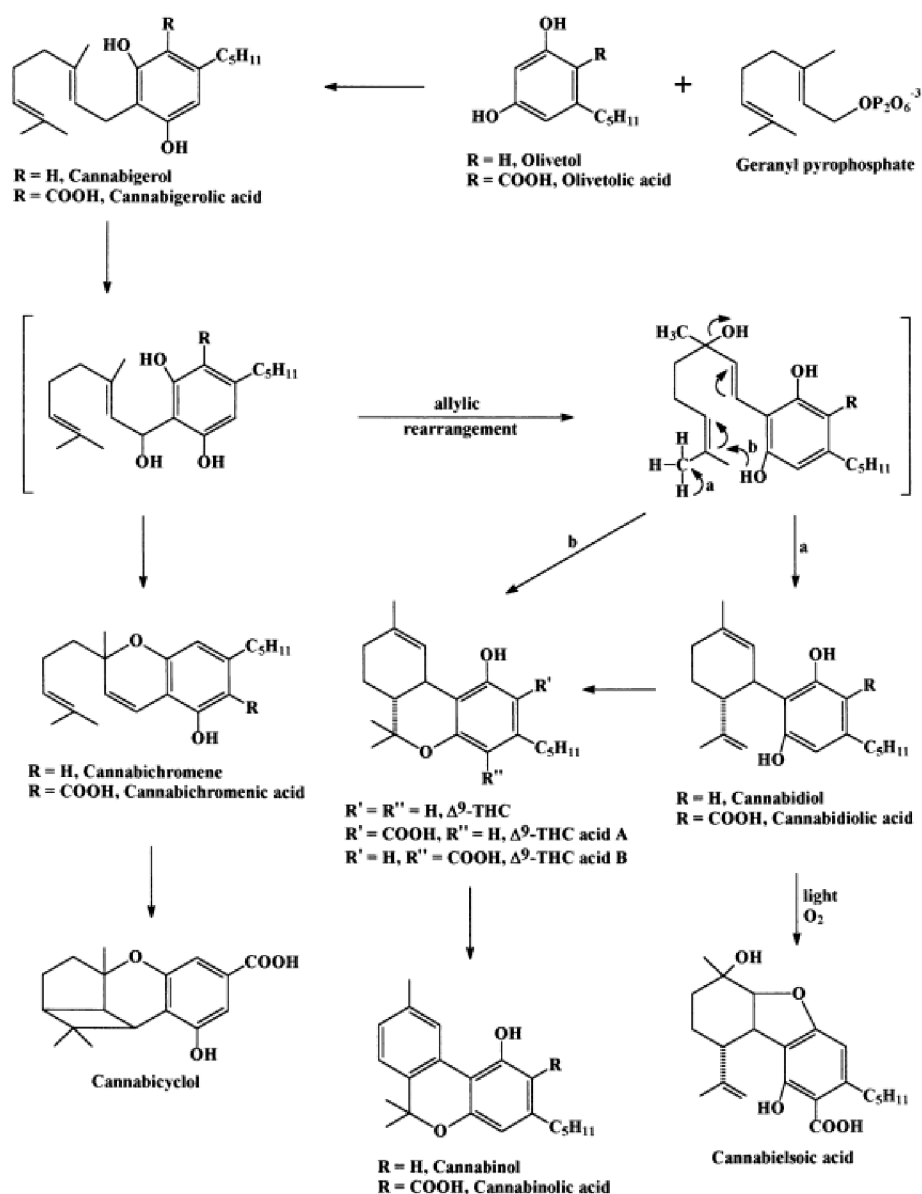
Jako kanabinoidy můžeme souhrnně označit skupinu molekul, které působí na kanabinoidní receptory a dále je můžeme rozdělit do 3 skupin – endokanabinoidy, syntetické kanabinoidy a fytoKANABINOIDY. V konopí bylo potvrzeno více než 120 fytoKANABINOIDŮ, které byly dále rozděleny na základě chemické povahy sloučeniny do 11 typů (Gonçalves et al. 2020). FytoKANABINOIDY jsou nejdůležitější skupinou biologicky aktivních látek. Jejich syntéza probíhá v již zmíněných žláznatých trichomech, dále se uchovávají v jejich subkutikulárním prostoru společně s dalšími metabolity jako jsou lipidy, vosky, fenylpropanoidy, flavonoidy, methylketony a terpenické látky. Tento sekret obsahující mnoho metabolitů připomíná pryskyřici (Champagne & Boutry 2016). Chemicky fytoKANABINOIDY C21 můžeme zařadit do tricyklických terpenoidů. Tyto sloučeniny mají nepolární charakter, což znamená, že budou rozpustné v nepolárních sloučeninách jako jsou například tuky (Thakur et al. 2005).

Nejdůležitější fytoKANABINOIDY v konopí jsou  $\Delta^9$ -trans-tetrahydrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC),  $\Delta^8$ -trans-tetrahydrokanabinol ( $\Delta^8$ -THC), kanabinol (CBN), kanabidiol (CBD), kanabigerol (CBG), kanabichromen (CBC), kanabielsoin (CBE), kanabidivarin (CBDV) a tetrahydrokanabivarin (THCV), kanabicyklo (CBL), kanabinodiol (CBND), kanabitriol (CBT) a další (Mechoulam & Ben-Shabat 1999).

Prekurzory těchto fytoKANABINOIDŮ jsou nepříliš stabilní karboxylové kyseliny, které vlivem tepla a světla podléhají dekarboxylaci, a tak přechází do aktivních forem fytoKANABINOIDŮ. Základem pro další syntézu rozličných kyselin je kyselina kanabigerolová, která se dále přeměňuje například na kyselinu tetrahydrokanabinolovou (THCA), ta je prekurzorem pro  $\Delta^9$ -THC a kyselinu kanabidiolovou (CBDA), z které poté vzniká CBD. V rostlině je obecně větší množství těchto kyselin než jejich dekarboxylovaných forem a jejich syntéza se navyšuje v období, kdy rostlina plně dozrává. Rychlost dekarboxylace se zvyšuje po sklizni a

následným skladováním. Jako indikátor pro degradaci těchto kyselin může být použito CBN (Happyana et al. 2013). Syntéza jednotlivých fytokannabinoidů je naznačena v obr. 4.

Nejlépe dekarboxylace probíhá při teplotách od 130 °C do 180 °C, a tak se i získávají aktivní formy fytokannabinoidů, jako je  $\Delta^9$ -THC, které má na rozdíl od THCA psychoaktivní účinek. Dekarboxylace, jak již název napovídá, proběhne odštěpením karboxylové skupiny (COOH). Tento proces je i důvodem, proč je konopí nejčastěji užíváno kouřením (Thakur et al. 2005).



Obr. 4 Syntéza fytokannabinoidů (Mechoulam & Hanuš, 2000)

## $\Delta^9$ -THC

$\Delta^9$ -THC je hlavní psychoaktivní složkou konopí a ačkoli je konopí známo po tisíce let, až v roce 1964 bylo  $\Delta^9$ -THC izolováno v čisté formě společně s objasněním jeho chemické

struktury (Costa 2007). V menší či větší míře se vyskytuje ve všech genotypech, jeho obsah v rostlině závisí na podmínkách pěstování, skladování a příslušném genotypu (de Backer et al. 2012).

Dle legislativy Evropské unie je hranice jeho obsahu stanovena na 0,3 % suché hmotnosti a kultivary pěstovány na vlákno nesmí tuto hranici překročit. V případě, že tato hranice je překročena, je toto konopí považováno za drogu (de Backer et al. 2012).

Jedná se o poměrně nestabilní látku, která podléhá degradaci. Degradace je ovlivněna především podmínkami skladování. Zásadními vlivy, které určují rychlost degradace jsou světlo a teplota. Produktem této degradace je pak CBN (Golombek et al. 2020).

Přeměna karboxylové formy na dekarboxylovanou aktivní formu, jak již bylo zmíněno, probíhá při vysokých teplotách. Toto je pravděpodobně důvodem oblíbenosti užívání konopí v podobě kouření, avšak účinnost přeměny při simulaci kouření dosahovala maximálně 30 %. V případě optimálních laboratorních podmínek je možné dosáhnout přeměny ze 70 %, tohoto výsledku bylo dosaženo při 150 °C (Dussy et al. 2005). Jeho účinky závisí na dávce a samotném subjektu.

Ve výzkumu Chesher et al. 1990 se zabývali účinky  $\Delta$ 9-THC na člověka, kdy dávka 5 mg nevyvolala žádný statisticky významný rozdíl od skupiny, které bylo podáváno placebo. Naopak při dávce 10 mg již byly znatelné účinky. Pro jednoduché měření výsledků byla v této studii navržena dávka 30 mg pro člověka s hmotností 70 kg (Chesher et al. 1990).  $\Delta$ 9-THC může vyvolat jak pozitivní, tak negativní symptomy. Z pozitivních je to relaxace, zlepšení požitků. Negativní symptomy jsou paranoia, úzkost, apatie, ztráta paměti, zpomalení reakcí, zhoršení motoriky. U některých jedinců se může projevit zrychlení srdečního rytmu či ortostatická hypotenze (Martin-Santos et al. 2012).

Jeho působení spočívá v částečném agonismu na endogenní kanabinoidní receptory (viz kapitola Endokanabinoidní systém), které jsou označovány jako CB1 a CB2, přičemž receptory CB1 jsou zodpovědné za většinu psychoaktivních efektů této látky.

$\Delta$ 9-THC má mnoho léčebných účinků. Jedním z nejzásadnějších je pozitivní působení na organismus zatížený zánětem, působí tedy protizánětlivě a zároveň i imunomodulativně (mění rozsah imunitní odpovědi), avšak všechny pochody nejsou úplně objasněny. Dále zmírňuje bolest a může tak být využito jako bezpečnější alternativa v porovnání s opioidy. (Miller et al. 2020). Jedním z účinků je také navýšení chuti k jídlu, společně s tlumením bolesti se toho využívá u onkologických pacientů (Strasser et al. 2006).

## **CBD**

CBD neboli kanabidiol je druhým nejčastějším fytokanabinoidem v konopí a jeho obsah se liší podle genotypu. Jedná se o nepsychoaktivní látku, která je chemickou strukturou velice podobná  $\Delta$ 9-THC, u některých druhů může být organismem přeměněno na psychoaktivní  $\Delta$ 9-THC, toto se však netýká člověka (Mechoulam 2012; White 2019). Vzniká z kyseliny kanabidiolové dekarboxylací (Happyana et al. 2013).

Jednou ze zásadních vlastností CBD je antagonismus k negativním účinkům  $\Delta$ 9-THC. Působí především proti úzkosti, ztrátě paměti a psychotickým stavům. Stejně jako  $\Delta$ 9-THC má



protizánětlivé schopnosti a v experimentech na myších se prokázaly pozitivní účinky v léčbě autoimunitních onemocnění (Mechoulam 2012). Ve studii (Appendino et al. 2008) bylo prokázáno, že je schopen inhibovat *Staphylococcus aureus* rezistentní na meticilin, a to i při nízkých koncentracích. Působí cytotoxicky na rakovinné buňky, přičemž chrání buňky zdravé (Russo, 2011). Své místo by také mohlo CBD najít v léčbě schizofrenie, ulcerózní kolitidy, schizofrenie a nevolnosti (Jamontt et al. 2010; Russo 2011; White 2019). Další zásadní vlastností CBD jsou jeho neuroprotektivní antioxidační účinky, které jsou silnější než u tokoferolu a askorbátu (Russo 2011).

Samotné CBD na rozdíl od  $\Delta$ 9-THC nevykazuje afinitu k receptorům CB1, avšak některé hydrogenované formy mají velice slabou afinitu k těmto receptorům. Toto je důvodem proč CBD není psychoaktivní (Burstein 2015).

## **CBG**

CBG neboli kanabigerol je dalším ze zástupců fytokanabinoidů. Stejně jako CBD nemá psychoaktivní vlastnosti a jeho běžný obsah v rostlině je poměrně nízký, ačkoli díky šlechtění se v posledních desetiletích podařilo dosáhnout znatelných obsahů v některých genotypech. Jeho schopnost relaxace svalů a analgetické vlastnosti překonávají  $\Delta$ 9-THC (Russo & Marcu 2017). Je intenzivně zkoumán v oblasti neurologických onemocnění, kde by mohl mít v budoucnu využití. Jak v in vitro, tak in vivo pokusech bylo prokázáno snížení vážnosti příznaků huntingtonovy choroby, amyotrofické laterální sklerózy, parkinsonovy choroby a roztroušené sklerózy. Podporuje chuť k jídlu a v in vivo modelech vedl k navýšení hmotnosti. Má jedny z nejsilnějších antimikrobiálních účinků ve skupině fytokanabinoidů při testování na rezistentních kmenech *Staphylococcus aureus*. U gramnegativních bakterií má však problém s průchodem přes membrány (Nachnani et al. 2021).

## **CBC**

Kanabichromen (CBC) je látka běžně zastoupená v konopí v nižších koncentracích (cca 0,3 %), avšak v některých genotypech může být jeho obsah značně vyšší (Russo & Marcu 2017). Genotypy bohaté na CBC vznikly selektivním křížením, jeho produkce je zakódována na recesivním genu. Zajímavým zjištěním je, že sloučeniny velice podobné CBC byly identifikovány v *Rhododendron anthopogonoides* (Iwata & Kitanaka 2011). Tato látka působí především na receptory CB2, u receptorů CB1 nebyly zaznamenány významné interakce (De Petrocellis et al. 2011). V pokusech na myších bylo zjištěno, že CBC dokáže otupovat bolest, zlepšovat analgetické účinky  $\Delta$ 9-THC, zároveň vykazuje protizánětlivé účinky (Russo & Marcu 2017).

## **CBDV**

Kanabidivarin je zkoumán pro své anti-epileptické účinky. Hill et al. (2012) potvrdili tyto účinky ve výzkumech in vivo, k potlačení záchvatů byly ale zapotřebí relativně velké dávky

(200 mg/kg). Takto vysoké dávky způsobily úplné potlačení epileptických záchvatů u 90 % jedinců.

## **CBN**

CBN neboli kanabinol je metabolitem  $\Delta^9$ -THC, který vzniká neenzymatickou oxidací především při skladování za vyšších teplot. Jedná se o první fytoKANABINOID identifikovaný a izolovaný z rostlin konopí (Wood et al. 1899). K tomuto objevu pravděpodobně přispěly špatné podmínky skladování a transportu v 19. století (Upton & ElSohly 2013). Oproti  $\Delta^9$ -THC si zachovává přibližně čtvrtinu až třetinu své účinnosti, co se týče schopnosti se vázat na receptory endokanabinoidního systému (Rhee et al. 1997). Zdá se, že CBN v kombinaci s  $\Delta^9$ -THC je schopno u lidí zvýšit pocit omámení oproti stavu vyvolaným samotným  $\Delta^9$ -THC (Karniol et al. 1975). Zároveň má některé charakteristiky společné s CBD, jako jsou protizánětlivé účinky, či schopnost prevence epileptických záchvatů (Evans 1991; Turner et al. 1980). V in vitro testech se projevila i schopnost inhibovat mikroorganismy jako například meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (Russo & Marcu 2017). Kromě mikroorganismů je schopno inhibovat i některé enzymy, jako například cytochrom P450, který je zodpovědný za transformaci xenobiotik (Pertwee & Cascio 2014).

## **THCV**

Tetrahydrokanabivarin (THCV) je propylový analog  $\Delta^9$ -THC, který se běžně nachází v rostlinách konopí v malých koncentracích. Avšak šlechtěním se dosáhlo až 16% podílu v některých genotypch (de Meijer & Hammond 2005). Zajímavou schopností THCV je účinkovat jako antagonist a i agonista receptorů CB1 podle koncentrace (Pertwee 2008). V budoucnu by mohl mít zásadní úlohu v řešení obezity či některých typů diabetu. Má schopnost signifikantně snižovat hladinu glukózy v krvi (Abioye et al. 2020). Mechanismus antagonismu CB1 receptorů způsobuje jeho schopnost potlačovat hlad a účinky  $\Delta^9$ -THC, avšak u některých léků na hubnutí působících na CB1 receptory se vyskytly u uživatelů silné deprese (McLaughlin 2012). Nicméně se zdá, že u THCV se tyto negativní účinky neprojevily (McPartland et al. 2015).

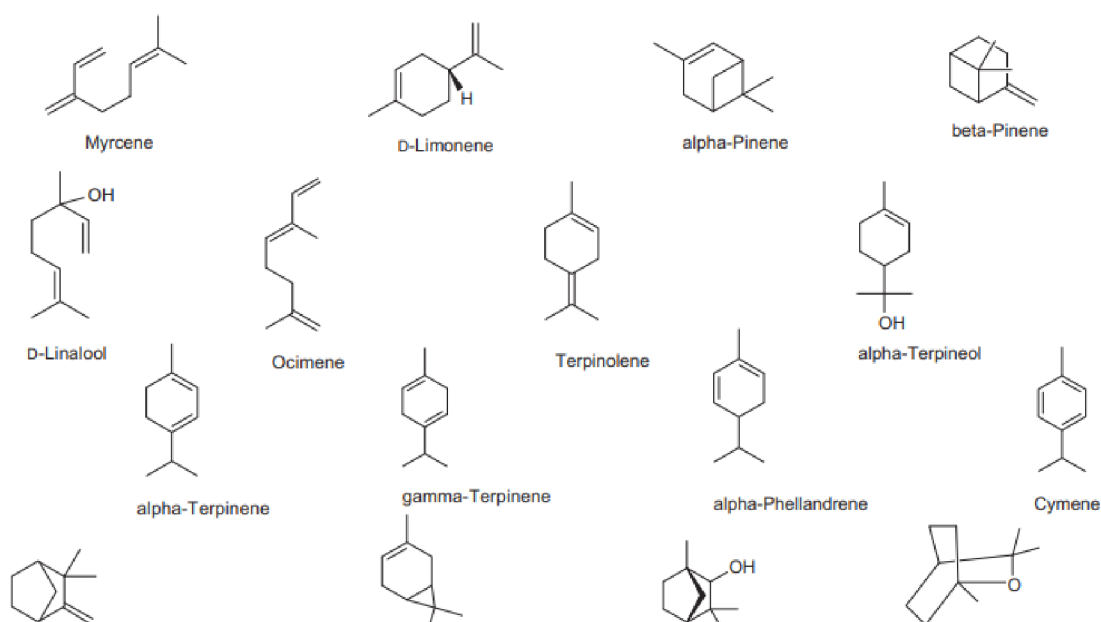
### **3.5.2 Terpenické sloučeniny konopí**

Terpenické sloučeniny jsou aromatické lipofilní sloučeniny zodpovědné za charakteristickou vůni a chuť konopí. Ve vědecké komunitě se vedou debaty o jejich důležitosti v rostlině. Rostliny je syntetizují jako ochranu vůči škůdcům, zároveň působí jako látky lákající opylovače. Stejně jako fytoKANABINOIDY jsou syntetizovány ve žláznatých trichomech. V konopí je obsaženo mnoho druhů těchto látek a jejich společná kombinace je odpovědná za charakteristickou vůni silic jednotlivých genotypů konopí. Zdroje uvádí, že v konopí může být obsaženo až 200 různých terpenů, jejich obsah a přítomnost více záleží na genotypu rostliny než na podmínkách růstu. Průměrný obsah v sušině rostliny je kolem 1 %, avšak s pomocí

šlechtitelských experimentů se v nejnovějších genotypch podařilo dosáhnout obsahů i 3,5 % (Russo & Marcu 2017).

Procesy vzniku terpenických látek byly na rozdíl od fytoKANABINOIDŮ prozkoumány až v posledních desetiletích, kdy se podařilo objasnit syntézy některých těchto látek (Booth et al. 2017). Tyto sloučeniny se ukázaly jako velice účinné i při malých koncentracích v plynné fázi, kdy v testech na potkanech ovlivňovaly jejich aktivitu (Buchbauer et al. 1993). Monoterpeny se vyznačují svou vysokou biologickou dostupností zejména při inhalaci (Russo & Marcu 2017).

Terpenické látky mohou mít vliv na mentální stav po požití konopí. Izolované  $\Delta^9$ -THC mělo spíše dysforické účinky a nižší terapeutický index. Naopak s přidáním D-limonenu do dávky se stav změnil na více euforický, s  $\beta$ -myrcenem se více projevila ospalost a nastalo „zjemnění“. (Russo & Marcu 2017). Chemické struktury jednotlivých terpenů jsou popsány v obr. 5.



Obr. 5 Chemické struktury terpenů konopí (převzato z Russo & Marcu 2017)

## $\beta$ -Myrcen

$\beta$ -Myrcen je nejzastoupenějším terpenem v moderních genotypch jak v USA, tak i v Evropě. Jeho obsah byl znatelnější v genotypch indika (Giese et al. 2015; Hazekamp et al. 2016). Je pravděpodobně spoluzodpovědný za sedativní účinky konopí a má protizánětlivé vlastnosti. U myši byly prokázány pozitivní účinky na uvolnění svalů, tlumení bolesti. Zároveň podporuje antioxidační efekty CBD a  $\Delta^9$ -THC. V podání s jinými sedativy prodlužuje dobu trvání navozených stavů (Russo & Marcu 2017).

## D-Limonen

D-Limonen je cyklický monoterpen běžně se vyskytující v citrusech. Jeho výskyt v konopí je významně proměnlivý v závislosti na genotypu. Stejně jako  $\beta$ -myrcen má vysokou

biodostupnost (70 %), v těle je rychle metabolizován, ale může se ukládat v tukové tkáni a mozku (Russo & Marcu 2017).

Jedná se o sloučeninu, která je prekurzorem celého souboru monoterpenů v rostlině. Enzym zodpovědný za jeho produkci se nazývá limonensyntáza (Booth et al. 2017).

V experimentech na myších byly potvrzeny silné schopnosti tlumit úzkost, zvyšovat serotonin a dopamin (de Moraes Pultrini et al. 2006). Zároveň studie Buchbauer et al. (1993) potvrdila, že u myší se po inhalování D-limonenu zvýšila jejich pohybová aktivita o 35,25 %. Jedná se o látku, která potlačuje negativní účinky  $\Delta 9$  – THC, a to především úzkost (Russo 2011).

D-Limonen se ukázal jako účinný v potlačování růstu některých patogenních organismů jako *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* (Gambino et al. 2022). V oblasti léčby bakteriálních kožních onemocnění též nalézá své místo (Sanguinetti et al. 2006). V in vitro studiích vykazoval například schopnost zachytávání volných radikálů, tedy působí proti oxidačnímu stresu (Shah & Mehta 2018).

### **$\alpha$ -Pinen**

Tento bicycklý monoterpen je nejzastoupenější látka ze skupiny terpenů v přírodě (Russo & Marcu 2017). Má široké terapeutické účinky, avšak v konopí je v moderních kultivarech méně zastoupený. Genotyp, u kterého se prokázal relativně vysoký obsah tohoto terpenu je nazýván „Blue dream“, tyto výsledky pochází z Jižní Kalifornie (Backes 2014). Vyznačuje se vysokou biodostupností při inhalaci. V těle je rychle metabolizován a redistribuován (Falk et al. 1990).

Má mnoho farmakologických účinků jako je protizánětlivost, rozšiřování dýchacích cest, antibiotický efekt proti meticillin-rezistentním kmenům *Staphylococcus aureus* a dalším mikroorganismům (Falk et al. 1990; Kim et al. 2015; Köse et al. 2010). Zároveň u myší napomáhal také proti úzkostem (Kasuya et al. 2015). Inhibuje enzym acetylcholinesteráza, což má za následek redukci jednoho z nepříznivých účinků  $\Delta 9$ -THC, a to ztráty paměti (Miyazawa & Yamafuji 2005; Russo et al. 2007).

### **$\beta$ -Pinen**

Jedná se o bicycklý monoterpen, izomer  $\alpha$ -pinenu. Běžně se vyskytuje společně s  $\alpha$ -pinenem, a proto není příliš prozkoumán jako samostatná látka. Nicméně v testech vykazoval stejné antibiotické účinky jako  $\alpha$ -pinen na *Staphylococcus aureus*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*. Společně s jeho izomerem má synergický účinek s komerčně využívanými antibiotickými látkami. Dobré výsledky vykazoval i proti biofilmům (Silva et al. 2012).

## **$\beta$ -Ocimen**

$\beta$ -Ocimen je monoterpen, který je jednou z nejvíce zastoupených sloučenin v přírodě v této kategorii. Silice s obsahem  $\beta$ -ocimenu byly zkoumány pro své pozitivní účinky v oblasti epilepsie, rakoviny a ochrany před škůdci. Též vykazoval aktivitu v oblasti potlačení růstu hub a plísní (Bomfim et al. 2016; Cascone et al. 2015; Sayyah et al. 2004). Zajímavou vlastností této volatilní látky je důležitá funkce v regulaci včelích společenstev (Maisonasse et al. 2010).

$\beta$ -Ocimen je jedním z hlavních komponentů v konopných esenciálních olejích vyráběných firmou Bedrocan, která dodává do evropských lékáren (Fischedick 2017).

## **$\beta$ -Karyofylen**

$\beta$ -Karyofylen je bicyklický seskviterpenický alken, který je nejčastější složkou konopných extraktů. Vyskytuje se běžně v rostlinné stravě. Má široké pole působnosti v oblasti farmakologických aktivit. Je to agonista CB2 receptoru, proto pozitivně ovlivňuje vnímání bolesti a podporuje účinky analgetik, jako je například morfin. Zároveň zlepšoval stav myši, u kterých byla vyvolána kolitida (Bento et al. 2011; Katsuyama et al. 2013). Má synergický efekt s  $\Delta^9$ -THC, kdy pomáhá při svědění a ochraně buněk zažívacího traktu. Stejně tak působí v synergii s CBD, což zajišťuje protizánětlivé vlastnosti (Russo 2011). V budoucnu by mohl být užitečný při léčbě metabolických a neurologických onemocnění společně s ochranou jater při konzumaci alkoholu (Varga et al. 2018).

## **$\alpha$ -Terpinolen**

Jedná se o cyklický monoterpen, běžný je například v borovicích, nejvíce se ho však nachází v pastináku (Tisserand & Young 2014). Poměrně běžný je i v některých moderních genotypech konopí, považuje se za charakteristický pro kultivary typu „sativa“ (Giese et al. 2015; Hazekamp et al. 2016).  $\alpha$ -Terpinolen se ukázal jako účinný pro prevenci oxidace LDL cholesterolu a léčbě kardiovaskulárních onemocnění jako je ateroskleróza (Graßmann et al. 2005). V testech na myších měl sedativní vlastnosti a snižoval jejich pohybovou aktivitu, avšak při subjektivním hodnocení kultivarů konopí s jeho vysokým obsahem, byly tyto kultivary hodnoceny opačně, tedy jako stimulační (Ito & Ito 2013; Russo & Marcu 2017). V testech zároveň byly potvrzeny antioxidační vlastnosti v lymfocytech a potlačoval růst plísní, zároveň by mohl působit jako insekticid (Aydin et al. 2013; Turkez et al. 2015).

### **3.5.3 Flavonoidy**

Flavonoidy jsou důležitou skupinou metabolitů v rostlinné říši s polyfenolickou strukturou, běžně se vyskytují v ovoci i zelenině. Jejich úloha spočívá především v obraně a vývoji rostliny. Chrání proti patogenům, predaci a nebezpečnému UV záření. Jejich lipofilní povaha předurčuje afinitu k buněčným membránám. Flavonoidy jsou spojovány s mnoha pozitivními účinky na zdraví. Mají antioxidační vlastnosti, jsou tedy schopny zachytávat volné

radikály. Zastoupení mají i v modifikaci různých enzymatických procesů v těle, což souvisí s jejich antikarcinogenními účinky (Panche et al. 2016). Význam mají i v oblasti mikroorganismů, kdy se jim přisuzují antibakteriální, antifungální a antivirové účinky (Hazekamp et al. 2010; Panche et al. 2016).

V konopí bylo nalezeno 23 flavonoidů a často se jim přisuzují synergistické účinky s dalšími látkami obsažených v konopí. Zároveň existují předpoklady, že zmírňují negativní účinky konopí. Flavonoidy, které byly zatím nalezeny pouze v konopí jsou kanaflavin A a kanaflavin B. Významná je jejich schopnost inhibovat prostaglandin E2, který je podáván při vyvolání porodu, a to dokonce s 30x větší účinností než aspirin (Barrett et al. 1986; Hazekamp et al. 2010).

### **3.6 Využití konopí v medicíně**

Konopí má mnoho biologicky aktivních sloučenin, které přináší široké spektrum účinků na lidský organismus. Tyto látky mohou navzájem působit synergicky, proto jsou obecně účinnější konopné extrakty z celé rostliny než samotné izolované látky. Tyto interakce se označují jako „entourage effect“. Nicméně mechanismy těchto efektů nejsou plně prozkoumány a je třeba klinických studií k jejich objasnění. Mnoho terapeutických účinků konopí se přisuzuje jeho působení na endokanabinoidní systém (Russo & Marcu 2017).

#### **3.6.1 Endokanabinoidní systém**

Endokanabinoidní systém je tvořen rozsáhlou sítí chemických signálů a receptorů, které jsou rozmístěny po celém těle, včetně mozku. Jeho fungování spočívá v řízení hladin a aktivit neurotransmiterů. Tento systém má vliv například na pocit hladu, bdělost, emoce, kardiovaskulární systém, metabolismus energie, reprodukční systém (Mechoulam & Parker 2013; Pacher et al. 2006). Na receptory endokanabinoidního systému působí látky zvané endokanabinoidy, které jsou syntetizovány v lidském těle za pomoci proteinových enzymů. Pravděpodobně nejvíce prozkoumanými endokanabinoidy jsou anandamid a 2-arachidonylglycerol (Wang & Ueda 2009). Po objevení endokanabinoidů se předpokládalo, že působí nescificky. Avšak jejich vysoká specifita ukazovala na konkrétnější působení (Mechoulam et al. 1988). Následně byly v myších mozcích objeveny receptory, na které endokanabinoidy přímo působí (Devane et al. 1988).

Receptory tohoto systému jsou označovány jako CB1 a CB2 (Mechoulam & Parker 2013). CB1 jsou nejvíc zastoupeny v nervové soustavě, především pak v mozku, ale vyskytují se i v periferních orgánech, avšak zde je jejich obsah nízký. Jejich vysoké zastoupení v motorických a senzorických centrech jsou v souladu s jejich důležitou úlohou v motivaci a poznání (Howlett 2002). Agonisté CB1 receptorů způsobují psychoaktivní účinky, jedním z agonistů je právě  $\Delta^9$ -THC (Miller et al. 2020). Receptory CB2 jsou hojně rozloženy především v buňkách imunitního systému, ačkoli stejně jako CB1 se nachází i v centrální nervové soustavě, avšak v menším počtu než CB1. Při některých onemocněních se počty receptorů CB2 zvyšují v centrální nervové soustavě. Zdá se, že CB2 jsou součástí obecného ochranného

systému těla (Mechoulam & Parker 2013; Pacher & Mechoulam 2011). Modulace aktivity endokannabinoidního systému se tedy jeví jako terapeuticky nadějná ve více oblastech, jako jsou motorická koordinace, paměť, chuť k jídlu, bolest a ochrana nervového systému (Sugiura et al. 2006; Wang & Ueda 2009).

### **3.6.2 Chronická bolest**

Chronická bolest je obtížně řešitelným problémem. Podle průzkumů je například v USA přibližně 100 milionů lidí trpících tímto problémem a náklady na tuto léčbu se pohybují kolem 600 milionů dolarů ročně (Gaskin & Richard 2012). Častou praxí je léčba chronické bolesti opiáty i přes jejich značnou návykovost. U jednodenní opioidové terapie již existuje 6% pravděpodobnost dlouhodobého užívání (Shah et al. 2017). Konopí a jeho přípravky jsou nadějným lékem chronické bolesti, studie ukázaly jasné zlepšení symptomů oproti placebo skupinám, jak při kouření, tak i při podávání orálně (Whiting et al. 2015). Mechanismus účinku spočívá v působení na endokannabinoidní systém, který má zásadní roli ve vnímání bolesti, přičemž hlavní vliv má  $\Delta 9$ -THC a CBD (Andre et al. 2016). Jedním ze schválených přípravků užívaných proti chronickým bolestem je Sativex<sup>®</sup>, který obsahuje THC a CBD v poměru 1:1. V klinických studiích byla prokázána jeho účinnost zejména proti spastické bolesti, revmatoidní artritidě a bolestech při nádorovém onemocnění (Blake et al. 2006; Johnson et al. 2010; Novotna et al. 2011).

### **3.6.3 Nevolnost a zvracení**

Nevolnost a zvracení jsou problémy běžně se vyskytující u pacientů podstupujících chemoterapie. Endokannabinoidní systém má stejně jako imunitní systém nezastupitelnou roli i v trávicím traktu, a proto jsou fyto cannabinoidy možným řešením pro pacienty s těmito obtížemi. Zdá se, že hlavním mechanismem je působení na CB1 receptory. Fytokannabinoidy mohou blokovat akutní i opožděné zvracení (Sharkey et al. 2014). Ve studii Musty & Rossi 2001 byl prokázán jasný účinek na tyto problémy, přičemž výsledky byly více než uspokojivé. Studie proběhla na pacientech prodávajících chemoterapii. Kouření se ukázalo jako účinnější, kdy ulevilo 70–100 % pacientů, při orálním podávání  $\Delta 9$ -THC se ulevilo 76–88 % pacientů (Musty & Rossi 2001). Poměrně velká část pacientů si při léčbě konopím stěžovala na vedlejší účinky. Toto bylo důvodem, proč někteří lidé ve skupinách léčených fyto cannabinoidy odstupovali z klinických studií oproti skupinám, kterým bylo podáváno placebo. Nicméně účinnost konopí je srovnatelná, ne-li vyšší v porovnání s běžně užívanými léky na potlačení zvracení (Smith et al. 2015). Konopí však může příznivě působit proti dalším negativním účinkům chemoterapie a může tedy být vhodnější než běžné léky (Ostadhadi et al. 2015).

### **3.6.4 Křeče**

Křeče neboli spastické stavy jsou časté projevy neurologických onemocnění, jako je například roztroušená skleróza (RS). Mezi hlavní projevy křečí patří bolesti a narušení spánku, dále přispívají k morbiditě pacientů s tímto onemocněním (Beard et al. 2003). Účinky

přípravků z konopí jsou v tomto ohledu dobře prozkoumané, studie ukazují na zlepšení spastických stavů o 20 % po jednom měsíci u pacientů trpících RS (Flachenecker et al. 2014a, 2014b). Navazující studie potvrzují jasné zlepšení, zároveň poukazují na dlouhodobou bezpečnost užívání s relativně nízkým počtem respondentů, kteří odešli kvůli vedlejším účinkům jako jsou únava či ztráta rovnováhy atd. (Ferrè et al. 2016; Zettl et al. 2016).

### **3.6.5 Gastrointestinální onemocnění**

Protože endokannabinoidní systém ovlivňuje gastrointestinální trakt a imunitní systém je jen přirozené, že by konopí mohlo pozitivně přispívat při léčbě zánětlivých gastrointestinálních onemocněních jako je Crohnova choroba a ulcerózní kolitida. V roce 2011 proběhla observační studie na pacientech trpící Crohnovou chorobou, která přinesla pozitivní výsledky, kdy u 21 subjektů z 30 testovaných došlo k výraznému zlepšení (Naftali et al. 2011). Proto výzkumníci pokračovali prospektivní studií zaslepenou placebem s pacienty, u kterých nezabírala běžná farmakologická léčba. U 5 z 11 subjektů ve skupině, v které pacienti dvakrát denně kouřili cigarety s obsahem 115 mg  $\Delta 9$ -THC, došlo k úplné remisi onemocnění a celkově u 10 z 11 došlo ke zlepšení. V placebo skupině subjekty kouřily cigarety, z kterých bylo extrahováno  $\Delta 9$ -THC, v této skupině došlo ke zlepšení u 4 pacientů z 10 a pouze u jedné k úplné remisi (Naftali et al. 2013). V novějších klinických studiích na ulcerózní kolitidu a Crohnovou nemoc se ukazuje, že jak  $\Delta 9$ -THC tak i CBD mají signifikantní vliv na kvalitu života pacientů, avšak endoskopické skóre a zánětlivé parametry se výrazně nezlepšily (Naftali et al. 2021a; Naftali et al. 2021b).

## **3.7 Antibakteriální účinky konopí**

Rostliny jsou bohaté na látky s antimikrobiální aktivitou. Především v posledních desetiletích roste zájem o přírodní látky se schopností potlačovat růst patogenních mikroorganismů. Důvodem tohoto zájmu je neustále rostoucí antibiotická rezistence, která bude v budoucnu velkým problémem pro zdravotnictví. Přírodní extrakty z rostlin představují jedno z řešení tohoto problému, které má potenciál překonat syntetické sloučeniny (Gyawali et al. 2015).

Mnoho studií poukázalo na schopnost přírodních extraktů, s plným spektrem jejich bioaktivních látek, potlačovat růst grampozitivních i gramnegativních bakterií s mnohočetnou lékovou rezistencí. Obecně mají rostlinné biologicky aktivní látky s antimikrobiální aktivitou schopnost narušovat membrány mikroorganismů, některé mohou potlačovat toxické účinky sekundárních metabolitů mikroorganismů jako je inhibice enzymů a toxinů (Barbieri et al. 2017).

Kromě samotného potlačení růstu mikroorganismů mohou mít některé biologicky aktivní látky schopnost ovlivňovat in vitro rezistenci na antibiotické látky. Tento synergický efekt s antibiotiky by mohl v budoucnu přispět v boji s antibiotickou rezistencí (Barbieri et al. 2017; Schofs et al. 2021).

V konopí se za hodnotné biologicky aktivní látky s antibakteriální aktivitou považují především fytokannabinoidy, terpenické látky a flavonoidy, které jsou proto intenzivně



zkoumány. Tyto látky mají synergickou aktivitu, proto se jako účinnější ukázaly extrakty z celé rostliny, než extrakty pouze s jednou látkou (Schofs et al. 2021).

I přes dosavadní poznatky o antimikrobiálních aktivitách sekundárních metabolitů zůstávají rostliny téměř nevyužitým zdrojem těchto látek v moderní medicíně (Appendino et al. 2008).

### 3.7.1 Účinky biologicky aktivních látek konopí na grampozitivní bakterie

Fytokanabinoidy se v mnoha experimentech ukázaly jako účinné látky při inhibici grampozitivních bakterií (Appendino et al. 2008; Farha et al. 2020; Wassmann et al. 2020). Jednou z nejvíce testovaných bakterií z této skupiny je *Staphylococcus aureus*, především pak jeho meticilin-rezistentní kmeny. U této bakterie byla potvrzena schopnost fytokanabinoidů inhibovat tvorbu biofilmů, ale i schopnost zničit již vytvořený biofilm, či vymýtit perzistentní buňky (Farha et al. 2020).

CBD se prokázalo v experimentech na grampozitivních bakteriích jako účinné, především společně s bacitracinem (antibiotikum), kdy prokázalo jasný synergický efekt v kombinaci s tímto antibiotikem. Tato směs způsobovala změny morfologie buněk, které samostatně tyto látky nezpůsobovaly. CBD snižovalo minimální inhibiční koncentraci bacitracinu u většiny druhů o polovinu, u některých i více, avšak toto platilo pouze pro grampozitivní bakterie, konkrétně se jednalo o druhy *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* a meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*. Mechanismus účinku spočíval pravděpodobně v narušení buněčné separace během buněčného dělení. Jak CBD, tak i bacitracin způsobovaly depolarizaci cytoplazmatické membrány, avšak kombinace neukázala v tomto ohledu synergický efekt. (Wassmann et al. 2020).

Nejúčinnějším fytokanabinoidem v experimentech Farha et al. (2020) pro takovéto účely bylo CBG, které prokázalo zmíněné schopnosti už při koncentracích 2 µg/ml. Zároveň *Staphylococcus aureus* nevykazoval schopnost tvořit si rezistenci na CBG, což je pozitivní zprávou, protože by narozdíl od nynějších antibiotik CBG nemuselo ztrácet účinnost v čase. Při stejné koncentraci bylo CBG účinné i proti *Bacillus subtilis* (Farha et al. 2020). Mechanismus účinku CBG pravděpodobně spočívá v cílení na proteiny cytoplazmatických membrán, kde vyvolává mutagenezi (Farha et al. 2020). Jako kontrolní antibiotikum byl ve výzkumu Farha et al. (2020) použit vankomycin, kdy CBG prokázalo srovnatelné účinky s tímto antibiotikem. Dalším mechanismem účinku je přímé narušení buněčné stěny, což má za následek únik cytoplazmy, a tedy zničení buňky (Tian et al. 2018).

### 3.7.2 Účinky biologicky aktivních látek konopí na gramnegativní bakterie

Gramnegativní bakterie jsou obecně odolnější vůči antibakteriálním látkám než grampozitivní. Což je patrně způsobeno větší schopností kontrolovat příjem a vylučování specifických látek či metabolitů. Příjem antibiotik do buňky je zpomalován vnější membránou, která je tvořena z dvojvrstvy fosfolipidů a lipopolysacharidů. Dvojvrstvy obsahující lipopolysacharidy jsou pevnější a zpomalují příjem antibiotik difuzí, zároveň limitují příjem hydrofilních látek díky užším pórům a mají vyvinutý systém přenašečů. Tyto přenašeče jsou

schopny antibiotika vylučovat zpět z buňky a snižovat tak koncentraci v cytoplazmě. Některé přenašeče tvoří s antibiotiky komplexy a přispívají tak k možné antibiotické rezistenci (Delcour 2009; Nikaido 2003). Narušení mechanismů přenašečů vede ke značnému zvětšení citlivosti gramnegativních bakterií vůči antibiotickým látkám (Swick et al. 2011). Proto se mohou využívat kombinace antibiotik tak, aby narušily membránu či funkce přenašečů a umožnily správné fungování komplexu inhibiční části směsi.

Pravděpodobně z těchto důvodů je i konopí nepříliš účinné v boji proti gramnegativním bakteriím. Ve výzkumu Farha et al. (2020) byly minimální inhibiční koncentrace CBG u gramnegativních bakterií mnohonásobně vyšší než u grampozitivních bakterií, a to až 64x. Zároveň však byl potvrzen synergický efekt všech testovaných fytokanabinoidů s polymyxinem B, což je antibiotikum účinné proti gramnegativním bakteriím. Tato kombinace byla testována na druzích *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*. Tento výzkum proto naznačuje potenciální využití fytokanabinoidů i v případě gramnegativních bakterií (Farha et al. 2020).

### 3.8 Bakteriální rezistence na antibiotika

Antibiotika byla průlomem v boji proti mnoha bakteriálním nákazám, které byly dříve obtížně léčitelné, avšak v posledních dekádách jejich nadužívání společně se socioekonomickými faktory vedlo k urychlenému rozšíření bakterií s antibiotickou rezistencí (Mancuso et al. 2021).

Pod socioekonomickými faktory se rozumí špatná hygiena, bezpečnost potravin, nedostatečná kontrola infekcí ve zdravotnických zařízeních, akumulace antibiotik v životním prostředí a jejich používání v potravinářském průmyslu (Collignon & Beggs 2019).

Studie Murray et al. (2022) odhaduje počet úmrtí způsobených mikroorganismy s antibiotickou rezistencí v roce 2019 na 1,2 milionu lidí a počet úmrtí, kde hrála antibiotická rezistence roli, na 4,95 milionu. Tato čísla jsou alarmující, avšak Světová zdravotnická organizace (WHO) odhaduje, že v roce 2050 by úmrtí mohla vzrůst až k deseti milionům lidí za rok. V roce 2017 WHO sestavila seznam nejnebezpečnějších bakterií pro lidstvo známý pod akronymem ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*). Pochopení mechanismů rezistence je klíčové pro budoucí boj s tímto nemalým problémem (Mancuso et al. 2021).

Antibiotická rezistence je známá již přes 70 let, kdy začaly vznikat první kolonie *Staphylococcus aureus* jenž jsou rezistentní na penicilin. Relativně dlouhou dobu to nepředstavovalo významný problém, protože byly poměrně rychle vyzkoumány nové druhy antibiotik jako vankomycin a meticillin, která byly účinné i na bakteriích rezistentních vůči penicilinu (McGuinness et al. 2017; Stapleton & Taylor 2002). Bohužel v následujících desetiletích si bakterie začaly vytvářet různé mechanismy rezistence i proti novějším typům antibiotik (Aslam et al. 2018).

Rezistenci můžeme rozdělit podle jejího vzniku na dvě základní skupiny, a to sice pasivní a aktivní. Pasivní rezistencí je myšleno získání antibiotické rezistence vlivem různých selekčních tlaků, a tedy vývojem bakterií, které nejsou spojeny s působením antibiotik.

Příkladem této rezistence mohou být gramnegativní bakterie s vnější membránou nepropustnou pro některá antibiotika, avšak tato membrána nevznikla vlivem antibiotik. Aktivní rezistencí je naopak myšlena rezistence, která vznikla díky selekčním tlakům vytvořených přímým působením antibiotik a následným vytvořením mechanismů (Wright 2005).

Existují tři základní typy antibiotické rezistence. Prvním mechanismem je schopnost bakterií enzymaticky rozkládat léčiva. Druhou je modifikace bakteriálních proteinů, na které antibiotika cílí. Posledním typem je změna v propustnosti membrány pro léčiva. Antibiotická rezistence může být buď zprostředkovaná plazmidy, nebo udržovaná na bakteriálním chromozomu. Vznik rezistence u penicilínů a cefalosporinů je většinou dán produkcí enzymu  $\beta$ -laktamázy, která hydrolyzuje tento typ antibiotik (Dever 1991). Všechny tyto mechanismy vyžadují nové genetické kódování, na což bakterie vydávají poměrně velkou část energie stejně jako značný prostor ve své genetické informaci (Wright 2005).

### **3.8.1 Selekční tlak**

Jedná se o faktor, který je závislý na rozsahu užívání antibiotik a je pravděpodobně nejdůležitějším faktorem při vzniku antibiotických rezistencí. Jak již bylo zmíněno, bakterie vydávají značnou část energie na schopnost odolávat antibiotikům, proto při nízkém selekčním tlaku není pro bakterie výhodné snižovat si celkovou životaschopnost, avšak toto se mění v případě, kdy začíná být selekční tlak větší. V případě, že selekční tlak ustává, opět se snižuje počet rezistentních bakterií díky jejich snížené životaschopnosti oproti bakteriím, které nevydávají energii na bakteriální rezistenci (Beneš 2018).

## **3.9 Bakterie způsobující kožní onemocnění**

Kůže je prostředí, kde žije četný počet bakterií. Do porodu je kůže sterilní, avšak hned po porodu se stává kůže hostitelem pro mnoho bakterií. Typ a hustota bakterií závisí na mnoha faktorech, jako je anatomická poloha, vlhkost pokožky, množství mazu a potu, věk a hormonální stav hostitele. Typy vztahů mezi hostitelem a bakterií mohou být komenzální (hostitel není negativně ovlivněn), symbiotické a parazitické. Trvalá kolonizace kůže je výsledkem schopnosti bakterií přilnout ke kožnímu epitelu a růst v relativně suchém a kyselém prostředí. Kůže podporuje růst komenzálních bakterií, které přímo i nepřímo chrání hostitele před patogenními bakteriemi. Mezi přímé účinky patří produkce bakteriocinů, produkce toxických metabolitů, indukce nízkého redukčního oxidačního potenciálu, vyčerpání základních živin, zabránění adhezenci konkurenčních bakterií, inhibice translokace a degradace toxinů. Komenzální bakterie soutěží o živiny. Aby se organismus stal patogenem musí obejít obranné mechanismy hostitele, bakterie se tedy mohou dlouhodobě vykytovat na kůži a nezpůsobovat žádné problémy, avšak například při oslabení imunity se toto může změnit (Chiller et al. 2001).

### 3.9.1 *Staphylococcus aureus*

Tato bakterie se řadí mezi grampozitivní koky. Jde o notoricky známou patogenní bakterii přezdívanou zlatý stafylokok s vysokou mortalitou a morbiditou. U lidí způsobuje záněty na kůži a měkké tkáni, a to především v nosohltanu. Poměrně často se vyskytuje v nemocničních zařízeních, kde se může dostávat do ran a způsobovat tak pooperační komplikace. V chovech přežvýkavců představuje hrozbu, protože je původcem mastitid, což má za následek ekonomické ohrožení těchto chovů. Je schopný produkovat proteiny, které se v těle vážou na složky extracelulárního matrixu, komponenty krve či poraněná místa, tyto proteiny pak pravděpodobně slouží k navázání samotných buněk patogenu na zmíněné struktury.

*Staphylococcus aureus* se po objevení penicilinu rychle adaptoval a vznikly tak rezistentní kmeny, z nichž je meticillin-rezistentní řazen mezi nejznámější. Poměrně dlouhou dobu byl účinný vankomycin, avšak koncem 2. tisíciletí získaly některé kmeny rezistenci i na toto antibiotikum (Foster 2002).

### 3.9.2 *Streptococcus pyogenes*

Jedná se o grampozitivní fakultativně anaerobní kok, který způsobuje jak invazivní, tak neinvazivní nákazy. Řadí se do skupiny streptokoků skupiny A. Je primárně patogenní pro člověka a způsobuje řadu onemocnění. Může napadat dýchací cesty, kůži či tkáně. Příklady onemocnění, kterých je tento streptokok původcem, jsou faryngitida, spála, impetigo, celulitida, syndrom streptokokového toxického šoku, akutní revmatická horečka a post-streptokoková glomerulonefritida (Avire et al. 2021). Touto bakterií jsou postiženy miliony lidí, kdy přibližně 500 tisíc případů každý rok končí smrtí (World Health Organization 2005). V 20. století se snižoval výskyt této bakterie především vlivem zvýšení životní úrovně v rychle se rozvíjejících státech (Ralph & Carapetis 2013). Avšak změny v genetické informaci bakterií, či v citlivosti lidí mohou vyústit ve zvýšení výskytu zmíněných onemocnění. Toto dokazuje rapidní nárůst spály v některých částech světa v 80. letech 20. století. Tento jev byl spojen s výskytem nových druhů tohoto streptokoka (Tagini et al. 2017; Zhang et al. 2017).

### 3.9.3 *Staphylococcus lugdunensis*

Tento koaguláza-negativní stafylokok je v mnoha ohledech zajímavou bakterií. Přesto, že je koaguláza negativní sdílí mnoho podobností s koaguláza pozitivními stafylokoky. Je poměrně častou bakterií vyskytující se na lidském těle, obývá především vlhké části kůže, jako je sliznice v nose či podpaží, přibližně 67 % lidí má tuto bakterii na svém těle (Bieber & Kahlmeter 2010). Jeho pravděpodobně nejzajímavějším aspektem je jeho schopnost inhibovat bakterii *Staphylococcus aureus* prostřednictvím produkce antibiotika zvaného lugdunin (Zipperer et al. 2016). Může způsobovat abscesy, přičemž projevy infekcí způsobených touto bakterií jsou na první pohled neodlišitelné od infekcí způsobených zlatým stafylokokem (Lambe Jr. et al. 1990). Hlavním problémem spojeným s touto bakterií je endokarditida (zánět vnitřního povrchu srdce). U přibližně poloviny pacientů s endokarditidou byl identifikován

tento kok a je pravděpodobně důvodem agresivního průběhu nemoci a vysoké mortality. Způsob nákazy může být spojován se zavedením katetru (Liu et al. 2010; Zinkernagel et al. 2008).

#### **3.9.4 *Staphylococcus saprophyticus***

Jedná se o grampozitivní, koaguláza-negativní kok, který je běžnou příčinou zánětu močových cest, především pak u mladých sexuálně aktivních žen. V menší míře pak může způsobovat akutní zánět ledvin, zánět nadvarlete a prostaty (Argemi et al. 2019; Pinault et al. 2019). Je součástí běžné lidské flóry, vyskytuje se na řitním otvoru, v močové trubici, děložním hrdle, hrázi a v gastrointestinálním traktu. Zároveň je součástí gastrointestinálního traktu prasat a skotu, odtud tedy může dojít k přenosu na člověka (Ehlers & Merrill 2022). U žen ve věku od 16 do 25 let je zodpovědný za 42 % infekcí a u přibližně 40 % mladých sexuálně aktivních žen je součástí močopohlavní flóry (Hur et al. 2016; Natsis & Cohen 2018). Kromě zánětu močových cest způsobuje i cysty v kůži a měkkých tkáních (Natsis & Cohen 2018).

## 4 Metodika

### 4.1 Materiály a chemikálie

#### 4.1.1 Rostlinný materiál

Jako rostlinný materiál byla využita sušená květenství rostlin konopí vypěstovaných „indoor“ způsobem v kultivační laboratoři České zemědělské univerzity v Praze. Ze selektovaných matečných rostlin (viz obr. 6) byly odebrány řízky (viz obr. 7). Vybrané trojice rostlin mají tedy stejný genetický základ.



Obr. 6 Matečné rostliny (Ing. Kosmáková Janatová, Ph.D. 2022)



Obr. 7 Řízky z matečných rostlin (Ing. Kosmáková Janatová, Ph.D. 2022)

## **Forbidden Fruit**

Tato genotyp má vyšší obsah  $\Delta 9$ -THC (až 16 %) a je bohatá na terpenické látky, především  $\beta$ -myrcen. V menším množství obsahuje také D-limonen a  $\beta$ -karyofylen, což napovídá o jejích sedativních a relaxačních vlastnostech. Jedná se výhradně o poddruh *indica* (Leafly 2010). Semena pocházela ze seedbanky US Specials.

## **Nurse Jackie**

Jedná se o genotyp léčebného konopí s převažujícím podílem  $\Delta 9$ -THC. Je to hybrid s 85% podílem poddruhu *sativa*. Vyznačuje se vysokým obsahem  $\Delta 9$ -THC (až 21 %), nejvíce zastoupenou terpenickou látkou je D-limonen, který je u tohoto genotypu odpovědný za citrusovou vůni. Poskytuje soustředěný, energický stav a je vhodný pro celodenní užívání, avšak vysoký obsah  $\Delta 9$ -THC může způsobovat úzkosti u citlivých jedinců (Leafly 2010). Semena pocházela ze seedbanky Homegrown Natural Wonders.

## **Shaman**

Shaman je genotyp převážně poddruhu *sativa*. Dominantními terpeny jsou pineny, dále obsahuje  $\alpha$ -terpinolen a  $\beta$ -ocimen. Toto složení terpenů poskytuje dřevitou vůni. Má střední obsah  $\Delta 9$ -THC (až 14 %) (Leafly 2010). Semena tohoto genotypu byla ze seedbanky Dutch passion.

## **Blueberry**

Genotyp Blueberry je převážně poddruhu *indica* (80 %) s vysokým podílem  $\Delta 9$ -THC (až 19,5 %). Jedná se o jednu ze starších genotypů pocházející z konce 70. let 20. století. Vyznačuje se širokým spektrem barev. Dominantním terpenem je  $\beta$ -myrcen. Má silné aroma, které může být přirovnáno k borůvkám. Její účinky jsou euforické a dlouhotrvající (Seedfinder 2007). Semena tohoto genotypu byla ze seedbanky Dutch Passion.

## **CBD Caramel**

Jedná se o genotyp s většinovým podílem poddruhu *indica* (70 %). Obsahuje  $\Delta 9$ -THC a CBD v poměru 1:1. Má jemnější účinky na pacienty, než genotypy s převažujícím obsahem  $\Delta 9$ -THC (Seedfinder 2007). Semena byla získána ze seedbanky Barney's farm.

### **4.1.2 Kmeny použitých bakterií**

#### ***Staphylococcus lugdunensis***

K testování antimikrobiální aktivity byl použit kmen 4069 z České kolekce mikroorganismů (CCM).

### ***Staphylococcus saprophyticus***

K testování antimikrobiální aktivity byl použit kmen 2727 z České kolekce mikroorganismů (CCM).

### ***Staphylococcus aureus***

K testování antimikrobiální aktivity byly použity dva kmeny z ATCC (American Type Culture Collection). Jednalo se o kmeny 25923 a 29213.

#### **4.1.3 Chemikálie pro testování mikrobiální aktivity**

##### **Kultivační médium**

Na kultivaci příslušných bakterií byl použit Mueller-Hinton bujón (MHB) CMO405 (OXOID).

##### **Antibiotikum**

Jako antibiotikum pro srovnání s extrakty byl použit chloramfenikol s počáteční koncentrací 16 µg/ml (Sigma-Aldrich).

##### **Rozpouštědlo**

Extrakty byly rozpuštěny v dimethylsulfoxidu (DMSO, VWR) tak, aby výsledná koncentrace byla 51,2 mg/ml.

##### **Extrakční činidlo**

Pro extrakci terpenických látek, fytokannabinoidů a dalších látek bylo využito nedenaturovaného 96 % ethanolu (VWR).

## **4.2 Metody**

### **4.2.1 Metody přípravy rostlinného materiálu**

#### **Podmínky pěstování**

Podmínky byly kontrolovány co se týče vlhkosti, teploty, cirkulace vzduchu, výživy rostlin (hydroponie) a obsah CO<sub>2</sub> v atmosféře.

Použité květináče měly objem 3,7 l. Ventilační jednotka udržovala teplotu a vlhkost vzduchu v místnosti mezi 22 a 25 °C a 40 a 70 %. Mikroklimatické podmínky byly upravovány podle fáze růstu rostlin. K zajištění vhodného spektra světla o výkonu 1 000 W byly použity vysokotlaké sodíkové výbojky s dvojitou koncovkou.



## Zpracování

Skliceň byla provedena v plné zralosti rostlin. Nejdříve byly rostliny odstřiženy od kořenů, dále byly zbaveny přebytečných listů, které neobsahují významné množství biologicky aktivních látek. Následně proběhlo zavěšení rostlin a sušení.

Po usušení byly květy odděleny od stonků a ostříhány přebytečné listy. Toto proběhlo s opatrností tak, aby se zachovalo co největší množství pryskyřičného materiálu na květech. Posledním krokem bylo vážení květů a zaznamenání hmotností do tabulky. Skliceň byla vzhledem k množství rostlin velice časově náročná.

## Příprava extraktů

U výsledné sušiny rostlin byla zjištěna hmotnost, následně byly vybrány genotypy vhodné pro přípravu extraktů. Předpokladem pro výběr byl dostatek rostlin od každého genotypu pro zajištění možnosti pracování v tripletech a dostatečný výnos z každé rostliny. Následně byly květy každé rostliny rozstříhány na přibližně 0,5 cm velké kusy, vzniklý materiál byl řádně promísen, rozprostřen. Z takto rozprostřeného vzorku se odebralo stejné množství materiálu z pěti míst, aby se zajistil reprezentativní vzorek o hmotnosti přibližně 3 g.

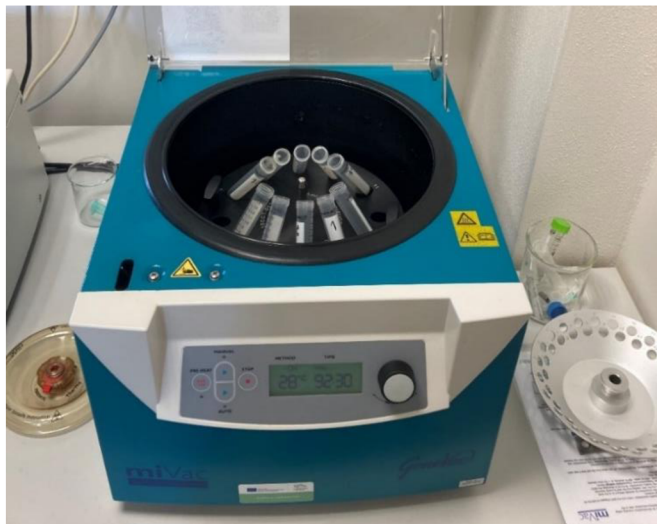
Po odebrání reprezentativních vzorků z každé testované rostliny bylo přesně odváženo množství v rozmezí 1,4 g – 1,5 g a bylo využito oscilačního mlýnu (MM 200, Retsch, Německo, obr. 8) pro řádnou homogenizaci vzorku (2 min). Homogenizace konopí může být velice problematická vzhledem k charakteru materiálu. Pryskyřice obsažená ve žláznatých trichomech je velice lepivá a při homogenizaci ulpívá na stěnách a samotných kulích kulového mlýnu. Proto bylo využito přesného množství ethanolu vztaženého k hmotnosti materiálu k omytí všech příslušných částí zasažených pryskyřicí, a tedy správného kvantitativního převedení do zkumavek.

Následovala samotná extrakce, která proběhla v ultrazvuku po dobu 30 minut. Po vyndání z ultrazvuku byly vzorky ihned centrifugovány po dobu 5 min, což zajistilo oddělení pevného materiálu od samotného extraktu. Extrakt byl zbaven veškerého pevného materiálu přefiltrováním přes filtry (NFT).



Obr. 8 Oscilační mlýn (Javůrková 2022)

Posledním krokem v přípravě extraktů bylo odpaření ethanolu na přístroji miVac (Genevac™) (obr. 9) při 40 °C.



Obr. 9 Přístroj SpeedVac na odpaření ethanolu (autor 2023)

#### 4.2.2 Metody testování antimikrobiální aktivity

##### Příprava živného média

Bujón (MHB) v práškové formě byl rozmíchán v destilované vodě a následně byl vysterilizován v autoklávu.

##### Příprava zásobního roztoku

Bylo odváženo přibližně 13–30 mg získaného extraktu a naředěno dimethylsulfoxidem (DMSO), tak aby výsledná koncentrace zásobního roztoku byla 51,2 mg/ml. Touto výchozí koncentrací se usnadní následné ředění.

##### Příprava inokula

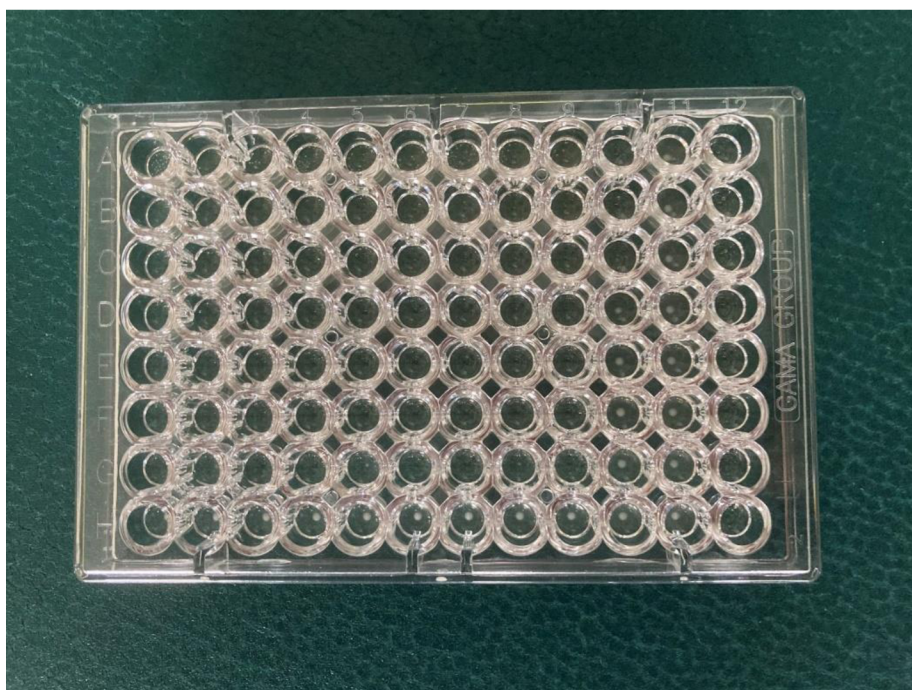
Do čistého bujónu MHB o objemu 10 ml bylo zaočkováno 0,1 ml příslušné bakterie. Takto zaočkované médium bylo kultivováno 24 hodin při 37 °C. Před zaočkováním samotné destičky byla bakteriální suspenze naředěna kultivačním médiem na koncentraci 0,5 McFarlanda, což odpovídá výsledné koncentraci 1–1,5 \*10<sup>8</sup> kolonií tvořící jednotku (KTJ). Takovéto měření umožnil denzitometr, konkrétněji DEN-1B, Biosan.

##### Mikrodiluční metoda

Mikrodiluční metoda je rychlý a efektivní způsob zjišťování citlovosti mikroorganismů na požadované extrakty, či látky. Testování proběhlo ve třech opakováních pro každou rostlinu. Jako kultivační médium byl využit MHB bujón. Bylo využito mikrodilučního dvojkového ředění s počáteční koncentrací extraktů 256 µg/ml (extrakt rozmíchán v MHB).

Nejnižší koncentrace (obr. 10, řádek H) extraktů byla pak 2  $\mu\text{g/ml}$ . Nedílnou součástí je kontrola čistoty (obr. 10, sloupec 12), která při správném provedení vylučuje možnou kontaminaci z prostředí. Pro ověření správného zaočkování byl jeden sloupec využit jako kontrola nárůstu (obr. 10, sloupec 11). V jednom sloupci mikrodiluční destičky byla provedena kontrola s antibiotiky (obr. 10, sloupec 10) s počáteční koncentrací 16  $\mu\text{g/ml}$  pro porovnání efektivity extraktů. Práce probíhala v laminárním boxu, který omezil riziko kontaminace. Pomůcky potřebné k provedení byly vysterilovány v autoklávu.

Nejprve bylo do prvního řádku napipetováno 200  $\mu\text{l}$  extraktu zředěného na 256  $\mu\text{g/ml}$  a antibiotikum o koncentraci 16  $\mu\text{g/ml}$ . Do zbytku jamek se napipetovalo 100  $\mu\text{l}$  MHB. Poté proběhlo dvojkové ředění (v následujícím řádku se koncentrace zmenší o polovinu). Destičky byly zainokulovány příslušnou bakterií pomocí inokulačního ježka a inkubovány po dobu 24 hodin při 37  $^{\circ}\text{C}$ .



*Obr. 10 Mikrodiluční destička po inkubaci (autor 2023)*

#### **4.2.3 Vyhodnocení**

Destičky byly změřeny po 24 hodinách inkubace pomocí readeru (BioTek Synergy H1) a porovnány s kontrolou čistoty. Na destičkách byla identifikována nejnižší koncentrace, která plně inhibovala nárůst neboli minimální inhibiční koncentrace (MIC). Ze všech získaných výsledků byly vybrány nejčastěji se vyskytující hodnoty (modus) MIC.

## 5 Výsledky

### 5.1 Hmotnost sklizně sušeného květenství jednotlivých genotypů (g)

Tabulka 1 Hmotnosti sklizně sušeného květenství jednotlivých genotypů (g)

Genotyp	Sušina (g)
Forbidden fruit 2 (1)	33,41
Forbidden fruit 2 (2)	35,9
Forbidden fruit 2 (3)	13,2
Forbidden fruit 3 (1)	39,32
Forbidden fruit 3 (2)	19,88
Forbidden fruit 3 (3)	21,48
Forbidden fruit 5 (1)	34,47
Forbidden fruit 5 (2)	35,34
Forbidden fruit 5 (3)	37,43
Forbidden fruit 6 (1)	17,01
Forbidden fruit 6 (2)	25,43
Forbidden fruit 6 (3)	21,86
Forbidden fruit 8 (1)	15,96
Forbidden fruit 8 (2)	16,98
Forbidden fruit 8 (3)	14,84
Nurse Jackie 1 (1)	21,63
Nurse Jackie 1 (2)	9,31
Nurse Jackie 1 (3)	21,61
Shaman 5 (1)	40,6
Shaman 5 (2)	28,03
Shaman 5 (3)	47,12
Blueberry 3 (1)	27,32
Blueberry 3 (2)	28,92
Blueberry 3 (3)	50,32
CBD Caramel 6 (1)	42,06
CBD Caramel 6 (2)	26,07
CBD Caramel 6 (3)	29,21

V tabulce 1 jedna jsou uvedeny hmotnosti sklizně u jednotlivých genotypů. Můžeme pozorovat značné rozdíly i v rámci stejných genotypů, a to i přesto, že rostliny byly hydroponicky pěstovány ve stejné místnosti s relativně stejnými podmínkami. Jediným rozdílem v podmínkách bylo tedy umístění rostliny v rámci místnosti.

## 5.2 Minimální inhibiční koncentrace *Staphylococcus lugdunensis* (kmen 4069)

Tabulka 2 Inhibiční koncentrace *Staphylococcus lugdunensis* u různých genotypů konopí

Genotyp	Inhibiční koncentrace µg/ml			Antibiotikum Chloramfenikol
	Číslo rostliny			
	1	2	3	
Forbidden fruit 2	8	8	16	4
Forbidden fruit 3	8	8	8	4
Forbidden fruit 5	8	8	8	4
Forbidden fruit 6	8	8	8	4
Forbidden fruit 8	8	8	8	4
Nurse Jackie 1	8	8	4	4
Shaman 5	8	8	8	4
Blueberry 3	8	8	8	4
CBD Caramel 6	8	8	8	4

V tabulce číslo 2 jsou znázorněny koncentrace roztoků potřebné k inhibici *Staphylococcus lugdunensis*. Mezi jednotlivými genotypy nebyly pozorovány velké rozdíly, nejčastější MIC u konopí byla 8 µg/ml, rozmezí bylo 4–16 µg/ml. Nejvyšší MIC byla u 3. rostliny Forbidden Fruit (16 µg/ml). Naopak genotyp Nurse Jackie rostlina 3 vykazovala MIC srovnatelnou s antibiotiky (4 µg/ml). Inhibiční koncentrace antibiotik byla shodná v každém opakování a to sice 4 µg/ml.

## 5.3 Minimální inhibiční koncentrace *Staphylococcus saprophyticus* (kmen 2727)

Tabulka 3 Inhibiční koncentrace *Staphylococcus saprophyticus* u různých genotypů konopí

Genotyp	Inhibiční koncentrace µg/ml			Antibiotikum Chloramfenikol
	Číslo rostliny			
	1	2	3	
Forbidden fruit 2	8	8	36	4
Forbidden fruit 3	8	8	16	4
Forbidden fruit 5	4	8	8	4
Forbidden fruit 6	8	8	8	4
Forbidden fruit 8	8	8	8	4
Nurse Jackie 1	8	8	8	4
Shaman 5	8	16	8	4
Blueberry 3	8	8	8	4
CBD Caramel 6	16	16	16	4

Tabulka číslo 3 obsahuje koncentrace potřebné k inhibici *Staphylococcus saprophyticus*. Nejčastější inhibiční koncentrací byla opět hodnota 8 µg/ml, rozmezí hodnot bylo 4–16 µg/ml. Výsledky u této bakterie byly mírně variabilní. Nejnižší MIC byla 4 µg/ml u genotypu Forbidden

Fruit 5. Horších výsledků dosáhl genotyp CBD Caramel (16 µg/ml) u všech rostlin. Nejvyšší MIC byla pozorována u 3. rostliny Forbidden Fruit 2 (36 µg/ml). Antibiotikum inhibovalo již při koncentraci 4 µg/ml.

#### 5.4 Minimální inhibiční koncentrace *Staphylococcus aureus* (kmen 29213)

Tabulka 4 Inhibiční koncentrace *Staphylococcus aureus* (kmen 29213) u různých genotypů konopí

Genotyp	Inhibiční koncentrace µg/ml			
	Číslo rostliny			Antibiotikum
	1	2	3	Chloramfenikol
Forbidden fruit 2	8	8	16	8
Forbidden fruit 3	8	8	8	8
Forbidden fruit 5	8	8	8	16
Forbidden fruit 6	8	16	8	8
Forbidden fruit 8	8	8	8	8
Nurse Jackie 1	8	8	4	16
Shaman 5	8	8	8	8
Blueberry 3	8	8	8	8
CBD Caramel 6	8	8	8	16

Tabulka číslo 4 obsahuje znázorňuje potřebné k inhibici *Staphylococcus aureus* (kmen 29213). Nejčastější inhibiční koncentrace byla 8 µg/ml, hodnoty se pohybovaly v rozmezí 4–16 µg/ml. Nejvyšší MIC byla pozorována u Forbidden Fruit 2 (rostlina 3) a Forbidden Fruit 3 (rostlina 2). Nejnižší MIC dosahovala Nurse Jackie rostlina 3 (4 µg/ml). Hodnoty antibiotik byly v rozmezí 8 až 16 µg/ml.

#### 5.5 Minimální inhibiční koncentrace *Staphylococcus aureus* (kmen 25923)

Tabulka 5 Inhibiční koncentrace *Staphylococcus aureus* (kmen 25923) u různých genotypů konopí

Genotyp	Inhibiční koncentrace µg/ml			
	Číslo rostliny			Antibiotikum
	1	2	3	Chloramfenikol
Forbidden fruit 2	8	8	8	8
Forbidden fruit 3	8	4	8	8
Forbidden fruit 5	4	4	4	8
Forbidden fruit 6	4	8	8	8
Forbidden fruit 8	4	4	8	8
Nurse Jackie 1	4	4	4	8
Shaman 5	4	8	4	8
Blueberry 3	4	4	8	8
CBD Caramel 6	8	8	8	8

V tabulce číslo 5 jsou znázorněny inhibiční koncentrace pro *Staphylococcus aureus* (kmen 25923). Z tabulky můžeme pozorovat větší citlivost toho kmenu ke konopným aktivním látkám, kdy se inhibiční koncentrace pohybovaly mezi 4 a 8 µg/ml. Genotypy Forbidden Fruit 5 a Nurse Jackie se jeví jako nejúčinnější, u všech rostlin byla MIC 4 µg/ml. Naopak genotypy Forbidden fruit 2 a CBD Caramel ukázaly menší inhibiční schopnosti (MIC u všech rostlin 8 µg/ml). Zároveň MIC chloramfenikolu byla 8 µg/ml, což je větší než u většiny genotypů.

## 6 Diskuze

Vzhledem k rostoucímu počtu bakterií rezistentních na antibiotika vlivem jejich častého nadužívání je hledání látek s antibiotickými vlastnostmi aktuální téma. Antibakteriální aktivita látek konopí byla potvrzena například ve výzkumu Farha et al. (2020), kdy se jako velice účinný jevil CBG. Zde byl potvrzen jak synergický efekt s antibiotiky, tak i neschopnost bakterií si tvořit na tuto látku rezistenci. To ukazuje na velký nevyužitý potenciál přírodních rostlinných látek. Avšak problémem jsou chybějící data týkající se antibiotických vlastností jednotlivých genotypů a jejich extraktů, toto ztěžuje fakt, že je konopí v mnoha státech nelegální a jeho zkoumání je tak problematické.

### 6.1 Antibakteriální aktivita konopných extraktů

Výsledky ukazují značnou schopnost konopných extraktů inhibovat bakterie rodu *Staphylococcus* spp. Mezi jednotlivými genotypy nebyly příliš velké rozdíly v minimálních inhibičních koncentracích (MIC) pro testované bakterie. Genotyp CBD Caramel vykazoval znatelně horší inhibici (16 µg/ml) ve všech opakováních u bakterie *Staphylococcus saprophyticus*, oproti jiným genotypům (viz tabulka 3). Zároveň měla horší inhibiční vlastnosti rostlina 3, genotypu Forbidden Fruit 2 u většiny bakterií (MIC 8–36 µg/ml) jak můžeme pozorovat v tabulkách 2 až 5.

V několika případech se rozdíly objevily v rámci samotných genotypů. Toto bylo nejznatelnější u bakterie *Staphylococcus aureus* (kmen 25923), kde se MIC pohybovaly mezi 4 a 8 µg/ml (viz tabulka 5). Zde genotyp Nurse Jackie a genotyp Forbidden Fruit 5 dosahovaly MIC 4 µg/ml ve všech třech opakováních (viz tabulka 5). Naopak genotyp Forbidden Fruit 2 a genotyp CBD Caramel vykazovaly shodnou inhibiční koncentraci 8 µg/ml (viz tabulka 5). Což opět vypovídá o horší inhibiční vlastnosti genotypu CBD Caramel a Forbidden Fruit 2. Nicméně v ostatních případech v tabulce 5 se MIC lišily i v rámci stejných genotypů, což naznačuje závislost inhibice na podmínkách růstu konopí, respektive aktivních látkách přítomných v konopí, a to i přesto, že podmínky byly zdánlivě stejné, rozdílem bylo umístění rostliny v rámci místnosti, což se mohlo podepsat na rozdílných hmotnostech sklizně (viz tabulka 1).

MIC 4–8 µg/ml u bakterie *Staphylococcus aureus* (kmen 29213) (viz tabulka 5) ukazují na vysokou citlivost tohoto kmenu ke konopným extraktům. Ve srovnání s antibiotiky, která ve všech opakováních u tohoto kmenu měly MIC 8 µg/ml (viz tabulka 5) se extrakty u této bakterie jeví jako mírně účinnější než antibiotikum chloramfenikol. Ve studii Muscarà et al. (2021) byla zjištěna MIC 39,06 µg/ml, tedy podstatně vyšší než v našich získaných datech, toto by mohlo být způsobeno jak rozdílností rostlinného materiálu, tak i způsobem extrakce látek. Ve studii Muscarà et al. (2021) se testoval genotyp s podílem  $\Delta 9$ -THC menším než 0,2 %. Toto poukazuje na významnou roli  $\Delta 9$ -THC v antibakteriální aktivitě konopí. Zároveň byl rostlinný materiál extrahován pomocí směsi 0,1% kyseliny octové a hexanu (1:1), což vlivem rozdílné polaritě vede k extrakci jiných typů látek. Ve výzkumu Vu et al. (2015) též testovali antimikrobiální aktivitu konopí na *Staphylococcus aureus*. Jejich MIC byla 62,5 µg/ml, avšak zásadním rozdílem bylo využití pouze stonků a listů z konopí, toto je problematické, protože



biologicky aktivní látky konopí se nachází především ve žláznatých trichomech, které jsou lokalizovány zejména na květech, proto byla pravděpodobně MIC vyšší. Roli taky mohlo hrát použití methanolu jako extrakčního činidla. Nejbližše našemu výzkumu byl metodicky výzkum Skala et al. (2022), rozdílem bylo použití 80% ethanolu. Tento výzkum určil MIC pro oba kmeny zlatého stafylokoka a bakterii *Staphylococcus saprophyticus* u genotypu Forbidden Fruit 8 µg/ml, což je srovnatelné s našimi výsledky, avšak MIC pro *Staphylococcus lugdunensis* identifikoval mírně vyšší a to sice 16 µg/ml oproti nejčastějším 8 µg/ml v naší studii.

Extrakty se v porovnání se samotnými fytoalkanoiny jeví jako méně účinné. Appendino et al. (2008) uvádějí MIC pro *Staphylococcus aureus* (kmen 25923) u dekarboxylovaných forem fytoalkanoinů v rozmezí 0,5–1 µg/ml, což je zřetelně menší než námi získané hodnoty extraktů. Avšak pokud se jedná o fytoalkanoiny ve formě karboxylových kyselin (MIC 2–4 µg/ml), nebyly rozdíly od výzkumu Appendino et al. (2008) tak markantní. Do budoucna by tedy bylo zajímavé porovnat extrakty u kterých byla provedena dekarboxylace s nedekarboxylovanými extrakty.

Naopak v porovnání s inhibičními účinky jednotlivých terpenických látek se extrakty z konopí prokázaly jako více účinné. Ve výzkumu Guimarães et al. (2019) stanovili MIC D-limonenu u zlatého stafylokoka na 250 µg/ml, což je zřetelně vyšší než hodnoty získané námi.

Ve výzkumu Zala et al. (2023) se zabývali antimikrobiální aktivitou chmelu otáčivého (*Humulus lupulus*), který sdílí čeleď s konopím. Testovali několik genotypů této rostliny na zlatém stafylokoku (kmen 29213), přičemž MIC uvádějí přibližně mezi 10–250 µg/ml (nejčastěji cca 20 µg/ml). V porovnání s našimi výsledky se tedy konopí ukazuje jako účinnější.

Účinnost extraktů by mohla být závislá i od celkového výnosu rostliny kdy Forbidden Fruit 2, rostlina číslo 3 s výnosem pouhých 13,2 g (viz tabulka 1) poskytovala zřetelně horší MIC (viz tabulka 1,2,3), než rostliny stejného genotypu. Toto se však nepotvrdilo u Nurse Jackie, rostliny číslo 2 s výnosem 9,31 g, která měla MIC srovnatelnou s jejími sestrami. Pro objasnění tohoto problému by bylo zapotřebí dalšího testování, kdy by se mohly některé rostliny například vystavovat stresu a porovnávat s nestresovanými rostlinami.

## 6.2 Účinnost chloramfenikolu

Chloramfenikol neúčinkoval na jednotlivé kmeny bakterií ve stejných koncentracích. Zatímco *Staphylococcus saprophyticus* a *Staphylococcus lugdunensis* byly inhibovány shodně již při koncentracích 4 µg chloramfenikolu na 1 ml média (viz tabulky 2 a 3), oba kmeny *Staphylococcus aureus* byly vůči tomuto antibiotiku odolnější. Studie Rangspanur et al. (2019) uvádí MIC chloramfenikolu pro *Staphylococcus saprophyticus* 4 µg/ml, což se shoduje s našimi zjištěními, avšak pro *Staphylococcus lugdunensis* tato studie zjistila MIC pouhý 1 µg/ml.

Co se týče antibiotik kmen 29213 neměl ve všech opakováních shodné inhibiční koncentrace (nejčastěji 8 µg/ml, ve třech případech 16 µg/ml) (viz tabulka 5), toto naznačuje, že jsme se pohybovaly na hraně MIC. Avšak ve výzkumu Páez et al. (2010) byla zjištěna MIC pro tento kmen pouhé 4 µg/ml. U kmenu 25923 byla MIC pro antibiotika shodná ve všech

případech (8 µg/ml) (viz. tabulka 5), toto se shoduje s výzkumem, který určil MIC chloramfenikolu pro kmen 25923 8 µg/ml (Dutta et al. 2001). Shodné inhibiční koncentrace u obou kmenů zlatého stafylokoka (8 µg/ml) uvádí i Skala et al. (2022).

## 7 Závěr

- Hypotéza, že ethanolové extrakty z různých genotypů budou ovlivňovat nebo inhibovat růst mikroorganismů, které způsobují kožní onemocnění byla potvrzena. Extrakty získané z různých genotypů léčebného konopí inhibovaly testované mikroorganismy s vysokou účinností (MIC 4–32 µg/ml). Jako nejcitlivější mikroorganismus se ukázal *Staphylococcus aureus* (kmen 25923), který byl v některých případech inhibován již při koncentraci 4 µg/ml, což je ve srovnání s chloramfenikolem (8 µg/ml) úctyhodný výsledek. Kmen 29213 (*Staphylococcus aureus*) byl mírně odolnější než druhý kmen této bakterie s nejčastější MIC 8 µg/ml. U bakterií *Staphylococcus saprophyticus* a *Staphylococcus lugdunensis* byla nejčastější MIC 8 µg/ml, avšak u některých rostlin jako například u genotypu Forbidden fruit 2, rostlina číslo 3 dosahovala MIC vyšších hodnot (16–32 µg/ml).
- Z hlediska jednotlivých genotypů konopí nebyly nalezeny příliš velké rozdíly. Mírně lepších výsledků dosahoval genotyp Nurse Jackie. Naopak CBD Caramel v některých případech vykazoval menší inhibici než ostatní rostliny, především u bakterie *Staphylococcus saprophyticus*. Vliv by tedy mohl mít obsah  $\Delta^9$ -THC, který je v genotypu CBD Caramel znatelně nižší než u genotypu Nurse Jackie.
- V porovnání s antibiotikem chloramfenikolem byly extrakty poměrně hodně účinné. Především u *Staphylococcus aureus* (kmen 25923) vykazovaly některé rostliny menší MIC než chloramfenikol. U druhého kmene této bakterie (29213) byly extrakty svou účinností srovnatelné s chloramfenikolem. Horší inhibiční vlastnosti extraktů v porovnání s chloramfenikolem byly u *Staphylococcus saprophyticus* a *Staphylococcus lugdunensis*, kdy tyto bakterie byly zároveň citlivější k tomuto antibiotiku.
- V budoucnu by bylo třeba porovnat výsledky této práce s obsahem fytoKANABINOIDŮ a terpenických látek, které stanovoval Bc. David Faigl ve své závěrečné práci a pokračovat v dalších výzkumech na jednotlivé genotypy konopí pro více informací o jejich antimikrobiální aktivitě.

## 8 Literatura

- Abioye A, Ayodele O, Marinkovic A, Patidar R, Akinwekomi A, Sanyaolu A. 2020.  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC): a commentary on potential therapeutic benefit for the management of obesity and diabetes. *Journal of Cannabis Research* **2**:6.
- Aldrich M. 1997. History of therapeutic cannabis. Pages 35–55 in Mathre ML, editor. *Cannabis in medical practice*. McFarland & Company, Jefferson.
- Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. 2016. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in Plant Science* **7**.
- Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, Smith E, Rahman MM. 2008. Antibacterial Cannabinoids from Cannabis sativa: A Structure–Activity Study. *Journal of Natural Products* **71**:1427–1430.
- Argemi X, Hansmann Y, Prola K, Prévost G. 2019. Coagulase-Negative Staphylococci Pathogenomics. *International Journal of Molecular Sciences* **20**:1215.
- Aslam B, et. al. 2018. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and drug resistance* **11**:1645–1658.
- Avire NJ, Whiley H, Ross K. 2021. A Review of Streptococcus pyogenes: Public Health Risk Factors, Prevention and Control. *Pathogens* **10**:248.
- Aydin E, Türkez H, Taşdemir Ş. 2013. Anticancer and Antioxidant Properties of Terpinolene in Rat Brain Cells. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* **64**:415–424
- Backes B. 2014. *Cannabis Pharmacy: The Practical Guide to Medical Marijuana*. Black Dog & Leventhal, New York.
- Barbieri R, Coppo E, Marchese A, Daglia M, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi SF, Nabavi SM. 2017. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological Research* **196**:44–68.
- Barrett ML, Scutt AM, Evans FJ. 1986. Cannflavin A and B, prenylated flavones from Cannabis sativa L. *Experientia* **42**:452–453.
- Beard S, Hunn A, Wight J. 2003. Treatments for spasticity and pain in multiple sclerosis: a systematic review. *Health Technology Assessment* **7**.
- Beneš J. 2018. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Grada Publishing. Praha.
- Bento AF, Marcon R, Dutra RC, Claudino RF, Cola M, Pereira Leite DF, Calixto JB. 2011.  $\beta$ -Caryophyllene Inhibits Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Mice through CB2 Receptor Activation and PPAR $\gamma$  Pathway. *The American Journal of Pathology* **178**:1153–1166.
- Bieber L, Kahlmeter G. 2010. Staphylococcus lugdunensis in several niches of the normal skin flora. *Clinical Microbiology and Infection* **16**:385–388.
- Blake DR, Robson P, Ho M, Jubb RW, McCabe CS. 2006. Preliminary assessment of the efficacy, tolerability and safety of a cannabis-based medicine (Sativex) in the treatment of pain caused by rheumatoid arthritis. *Rheumatology* **45**:50–52.
- Bomfim LM, et al. 2016. Antitumour Activity of the Microencapsulation of Annona vepretorum Essential Oil. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **118**:208–213.

- Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, Mastinu, A. 2018. *Cannabis sativa*: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology* **227**:300–315.
- Booth JK., Page JE., Bohlmann J. 2017. Terpene synthases from *Cannabis sativa*. *PLoS One* **12**:e0173911.
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., Jäger, W., Plank, C., Dietrich, H. 1993. Fragrance Compounds and Essential Oils with Sedative Effects upon Inhalation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **82**: 660–664.
- Burstein, S. 2015. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **23**:1377–1385
- Cascone P, Lodice L, Maffei ME, Bossi S, Arimura G, Guerrieri E. 2015. Tobacco overexpressing  $\beta$ -ocimene induces direct and indirect responses against aphids in receiver tomato plants. *Journal of Plant Physiology* **173**:28–32.
- Collignon, P., Beggs, J. J. 2019. Socioeconomic Enablers for Contagion: Factors Impelling the Antimicrobial Resistance Epidemic. *Antibiotics* **8**:86.
- Costa, B. 2007. On the Pharmacological Properties of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC). *Chemistry & Biodiversity* **4**:1664–1677.
- de Backer, B., Maebe, K., Verstraete, A. G., Charlier, C. 2012. Evolution of the Content of THC and Other Major Cannabinoids in Drug-Type Cannabis Cuttings and Seedlings During Growth of Plants\*. *Journal of Forensic Sciences* **57**:918–922.
- de Meijer EPM, Hammond KM. 2005. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. (II): Cannabigerol predominant plants. *Euphytica* **145**:189–198.
- de Moraes Pultrini A, Almeida Galindo L, Costa M. 2006. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. *Life Sciences* **78**:1720–1725.
- 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**.
- Delcour AH. 2009. Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **1794**:808–816.
- Devane WA, Dysarz FA., Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. 1988. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular pharmacology* **34**:605–613.
- Dever LA. 1991. Mechanisms of Bacterial Resistance to Antibiotics. *Archives of Internal Medicine* **151**:886.
- Dussy FE, Hamberg C, Luginbühl M, Schwerzmann T, Briellmann TA. 2005. Isolation of  $\Delta^9$ -THCA-A from hemp and analytical aspects concerning the determination of  $\Delta^9$ -THC in cannabis products. *Forensic Science International* **149**:3–10.
- Dutta GN, Gogoi J, Buragohain J. 2001. Inactivation of chloramphenicol by *Staphylococcus aureus* by *Staphylococcus aureus* biotype C from humans & animals. *Indian Journal of Medical Research* **113**:11–13.
- Ehlers S, Merrill SA. 2022. *Staphylococcus Saprophyticus*. StatPearls Publishing, USA.

- Evans F. 1991. Cannabinoids: The Separation of Central from Peripheral Effects on a Structural Basis. *Planta Medica* **57**:60–67.
- Falk AA, Hagberg MT, Lof AE, Wigaeus-Hjelm EM, Wang ZP. 1990. Uptake, distribution and elimination of alpha-pinene in man after exposure by inhalation. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* **16**:372–378.
- Fankhauser M. 2002. History of cannabis in Western Medicine. Pages 37–51 in Ethan B Russo, editor. *Cannabis and Cannabinoids*. The Haworth Integrative Healing Press, New York.
- Farag S, Kayser O. 2017. The Cannabis Plant: Botanical Aspects. Pages 3–12 in Victor Preedy, editor. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment*. Elsevier.
- Farha MA, El-Halfawy OM, Gale RT, MacNair CR, Carfrae LA, Zhang X, Jentsch NG, Magolan J, Brown ED. 2020. Uncovering the Hidden Antibiotic Potential of Cannabis. *ACS Infectious Diseases* **6**:338–346.
- Ferrè L, et al. 2016. Efficacy and safety of nabiximols (Sativex®) on multiple sclerosis spasticity in a real-life Italian monocentric study. *Neurological Sciences* **37**:235–242.
- Fischedick JT. 2017. Identification of Terpenoid Chemotypes Among High trans- $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol-Producing *Cannabis sativa* L. Cultivars. *Cannabis and Cannabinoid Research* **2**:34–47.
- Flachenecker P, Henze T, Zettl UK. 2014. a Long-Term Effectiveness and Safety of Nabiximols (Tetrahydrocannabinol/Cannabidiol Oromucosal Spray) in Clinical Practice. *European Neurology* **72**:95–102.
- Flachenecker P, Henze T, Zettl UK. 2014. b Nabiximols (THC/CBD Oromucosal Spray, Sativex®) in Clinical Practice - Results of a Multicenter, Non-Interventional Study (MOVE 2) in Patients with Multiple Sclerosis Spasticity. *European Neurology* **71**:271–279.
- FOSTER T. 2002. *Staphylococcus aureus*. Pages 839–888 in Max Sussman, editor. *Molecular Medical Microbiology*. Elsevier, Nizozemsko.
- Gambino E, Maione A, Guida M, Albarano L, Carraturo F, Galdiero E, di Onofrio V. 2022. Evaluation of the Pathogenic-Mixed Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa/Staphylococcus aureus* and Treatment with Limonene on Three Different Materials by a Dynamic Model. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **19**:3741.
- Gaskin DJ., Richard P. 2012. The Economic Costs of Pain in the United States. *The Journal of Pain* **13**:715–724.
- Giese MW, Lewis MA, Giese L, Smith KM. 2015. Method for the Analysis of Cannabinoids and Terpenes in Cannabis. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **98**:1503–1522.
- Golombek P, Müller M, Barthlott I, Sproll C, Lachenmeier DW. 2020. Conversion of Cannabidiol (CBD) into Psychotropic Cannabinoids Including Tetrahydrocannabinol (THC): A Controversy in the Scientific Literature. *Toxics* **8**:41.
- Gonçalves ECD, Baldasso GM, Bicca MA, Paes RS, Capasso R, Dutra RC. 2020. Terpenoids, Cannabimimetic Ligands, beyond the Cannabis Plant. *Molecules* **25**:1567.

- Graßmann J, Hippeli S, Spitzenberger R, Elstner EF. 2005. The monoterpene terpinolene from the oil of *Pinus mugo* L. in concert with  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene effectively prevents oxidation of LDL. *Phytomedicine* **12**:416–423.
- Guimarães AC, Meireles LM, Lemos MF, Guimarães MCC, Endringer DC, Fronza M, Scherer R. 2019 Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils. *Molecules* **24**:2471.
- Gyawali R, Hayek SA, Ibrahim SA. 2015. Plant extracts as antimicrobials in food products. Pages 31–47 in Taylor TM, editor. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*. Elsevier, Nizozemsko.
- Happyana N, Agnolet S, Muntendam R, van Dam A, Schneider B, Kayser O. 2013. Analysis of cannabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal *Cannabis sativa* using LCMS and cryogenic NMR. *Phytochemistry* **87**:51–59.
- Hazekamp A, Fishedick JT, Díez L, Lubbe A, Ruhaak RL. 2010. 3.24 Chemistry of Cannabis. *Comprehensive natural products II* **3**:1033–1084
- Hazekamp, A., Tejkalová, K., Papadimitriou, S. 2016. Cannabis: From Cultivar to Chemovar II—A Metabolomics Approach to Cannabis Classification. *Cannabis and Cannabinoid Research* **1**:202–215.
- Hill A, et al. 2012. Cannabidiol is anticonvulsant in mouse and rat. *British Journal of Pharmacology* **167**:1629–1642.
- Howlett AC. 2002. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacological Reviews* **54**:161–202.
- Hui-Lin Li 1974. An Archaeological and Historical Account of Cannabis in China. *Economic Botany* **28**:437–448.
- Hur J, Lee A, Hong J, Jo W, Cho OH, Kim S, Bae IG. 2016. *Staphylococcus saprophyticus* Bacteremia originating from Urinary Tract Infections: A Case Report and Literature Review. *Infection & Chemotherapy* **48**:136.
- Champagne A, Boutry M. 2016. Proteomics of terpenoid biosynthesis and secretion in trichomes of higher plant species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **1864**:1039–1049.
- Chesher GB, Bird KD, Jackson DM, Perrignon A, Starmer GA. 1990. The effects of orally administered  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol in man on mood and performance measures: A dose-response study. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **35**:861–864.
- Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ. 2001. Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* **6**:170–174.
- Ito K, Ito M. 2013. The sedative effect of inhaled terpinolene in mice and its structure–activity relationships. *Journal of Natural Medicines* **67**:833–837.
- Iwata N, Kitanaka S. 2011. New Cannabinoid-Like Chromane and Chromene Derivatives from *Rhododendron anthopogonoides*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **59**:1409–1412.
- Jamontt J, Molleman A, Pertwee R, Parsons M. 2010. The effects of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol alone and in combination on damage, inflammation and in vitro motility disturbances in rat colitis. *British Journal of Pharmacology* **160**:712–723.

- Javůrková N. 2022. Identifikace a relativní kvantifikace biologicky aktivních látek v různých genotypech léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.) [MSc Thesis]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Johnson JR, Burnell-Nugent M, Lossignol D, Ganai-Motan ED, Potts R, Fallon MT. 2010. Multicenter, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Parallel-Group Study of the Efficacy, Safety, and Tolerability of THC:CBD Extract and THC Extract in Patients with Intractable Cancer-Related Pain. *Journal of Pain and Symptom Management* **39**:167–179.
- Karniol IG, Shirakawa L, Takahashi RN, Knobel E, Musty RE. 1975. Effects of  $\Delta$ -9-tetrahydrocannabinol and cannabinalol in man. *Pharmacology* **13**:502-512.
- Kasuya H, Okada N, Kubohara M, Satou T, Masuo Y, Koike K. 2015. Expression of BDNF and TH mRNA in the Brain Following Inhaled Administration of  $\alpha$ -Pinene. *Phytotherapy Research* **29**:43–47.
- Katsuyama S, Mizoguchi H, Kuwahata H, Komatsu T, Nagaoka K, Nakamura H, Bagetta G, Sakurada T, Sakurada S. 2013. Involvement of peripheral cannabinoid and opioid receptors in  $\beta$ -caryophyllene-induced antinociception. *European Journal of Pain* **17**:664–675.
- Kim D, et al. 2015. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF- $\kappa$ B Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. *The American Journal of Chinese Medicine* **43**:731–742.
- KOPAC. 2019. Kde ve světě je léčebné konopí legální a do jaké míry (pravidelně aktualizováno). KOPAC, Pacientský spolek pro léčbu konopím, Praha. Available from: <https://kopac.cz/kde-ve-svete-je-lecebne-konopi-legalni-a-do-jake-miry-pravidelneaktualizovano/> (accessed February 2023).
- Köse EO, Deniz İG., Sarıkürkçü C, Aktaş Ö, Yavuz M. 2010. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Sideritis erythrantha* Boiss. and Heldr. (var. *erythrantha* and var. *cedretorum* P.H. Davis) endemic in Turkey. *Food and Chemical Toxicology* **48**:2960–2965.
- Lambe Jr. DW, Ferguson KP, Keplinger JL., Gemmell CG, Kalbfleisch JH. 1990. Pathogenicity of *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus schleiferi*, and three other coagulase-negative staphylococci in a mouse model and possible virulence factors. *Canadian Journal of Microbiology* **36**:455–463.
- Liu PY, Huang YF, Tang CW, Chen YY, Hsieh KS, Ger LP, Chen YS, Liu YC. 2010. *Staphylococcus lugdunensis* Infective Endocarditis: A Literature Review and Analysis of Risk Factors. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* **43**:478–484.
- Maisonnasse A, Lenoir JC, Beslay D, Crauser D, le Conte Y. 2010. E- $\beta$ -Ocimene, a Volatile Brood Pheromone Involved in Social Regulation in the Honey Bee Colony (*Apis mellifera*). *PLoS One* **5**:e13531.
- Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. 2021. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens* **10**:1310.



- Martin-Santos R. et al. 2012. Acute Effects of a Single, Oral dose of d9-tetrahydrocannabinol (THC) and Cannabidiol (CBD) Administration in Healthy Volunteers. *Current Pharmaceutical Design* **18**:4966–4979.
- McGuinness WA, Malachowa N, DeLeo FR. 2017. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Yale journal of biology and medicine* **90**:269–281.
- McLaughlin PJ. 2012. Reports of the death of CB1 antagonists have been greatly exaggerated. *Behavioural Pharmacology* **23**:537–550.
- McPartland JM, Duncan M, Di Marzo V, Pertwee, R. G. 2015. Are cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. *British Journal of Pharmacology* **172**:737–753.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S. 1999. From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2-arachidonoylglycerol: the ongoing story of cannabis. *Natural Product Reports* **16**:131–143.
- Mechoulam R, Feigenbaum JJ, Lander N, Segal M, Järbe TUC, Hiltunen AJ., Consroe P. 1988. Enantiomeric cannabinoids: stereospecificity of psychotropic activity. *Experientia* **44**:762–764.
- Mechoulam R, Hanus L. 2000. A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chem Phys Lipids* **108**:1-13.
- Mechoulam R, Parker, LA. 2013. The Endocannabinoid System and the Brain. *Annual Review of Psychology* **64**:21–47.
- Mechoulam R. 2012. Cannabis—A Valuable Drug That Deserves Better Treatment. *Mayo Clinic Proceedings* **87**:107–109.
- Miller HP, Bonawitz SC, Ostrovsky O. 2020. The effects of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) on inflammation: A review. *Cellular Immunology*. **352**:104111
- Ministerstvo zdravotnictví České republiky. 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 použití. Page 3146 in *Sbírka zákonů České republiky, 2020, částka 121*. Česká republika.
- Miyazawa M, Yamafuji C. 2005. Inhibition of Acetylcholinesterase Activity by Bicyclic Monoterpenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**:1765–1768.
- Mnekin L, Ripoll L. 2021. Topical Use of *Cannabis sativa* L. *Biochemicals. Cosmetics* **8**:85.
- Moreau J. 1845. *Du Hachisch et de l'Alienation Mentale: Etudes Psychologiques*. Librairie de Fortin Mason, Francie.
- Murray CJ. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet* **399**:629–655.
- Muscarà C, Smeriglio A, Trombetta D, Mandalari G, La Camera E, Occhiuto C, Grassi G, Circosta C. 2021. Antioxidant and antimicrobial activity of two standardized extracts from a new Chinese accession of non-psychotropic *Cannabis sativa* L. *Phytotherapy Research* **35**:1099–1112.

- Musty RE, Rossi R. 2001. Effects of Smoked Cannabis and Oral  $\delta$  9 -Tetrahydrocannabinol on Nausea and Emesis After Cancer Chemotherapy. *Journal of Cannabis Therapeutics* **1**:29–56.
- Naftali T, Bar-Lev Schleider L, Almog S, Meiri D, Konikoff FM. 2021b. Oral CBD-rich Cannabis Induces Clinical but Not Endoscopic Response in Patients with Crohn’s Disease, a Randomised Controlled Trial. *Journal of Crohn’s and Colitis* **15**:1799–1806.
- Naftali T, Bar-Lev Schleider L, Dotan I, Lansky EP, Sklerovsky Benjaminov F, Konikoff FM. 2013. Cannabis Induces a Clinical Response in Patients With Crohn’s Disease: A Prospective Placebo-Controlled Study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* **11**:1276-1280
- Naftali T, Bar-Lev Schleider L, Scklerovsky Benjaminov F, Konikoff FM, Matalon ST, Ringel Y. 2021a. Cannabis is associated with clinical but not endoscopic remission in ulcerative colitis: A randomized controlled trial. *PLOS ONE*. **16**:e0246871.
- Naftali T, Lev LB, Yablecovitch D, Half E, Konikoff FM. 2011. Treatment of Crohn’s disease with cannabis: an observational study. *The Israel Medical Association journal* **13**:455–458.
- Nachnani R, Raup-Konsavage WM, Vrana KE. 2021. The Pharmacological Case for Cannabigerol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **376**:204–212.
- Natsis NE, Cohen PR. 2018. Coagulase-Negative *Staphylococcus* Skin and Soft Tissue Infections. *American Journal of Clinical Dermatology* **19**:671–677.
- Nikaido H. 2003. Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **67**:593–656.
- Novotna A. 2011. A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, enriched-design study of nabiximols\* (Sativex <sup>®</sup>), as add-on therapy, in subjects with refractory spasticity caused by multiple sclerosis. *European Journal of Neurology* **18**:1122–1131.
- O’Shaughnessy, R., 1839. Case of Tetanus, Cured by a Preparation of Hemp (the *Cannabis indica*), *Transactions of the Medical and Physical Society of Bengal* **8**, 1838-40, 462-469
- Ostadhadi S, Rahmatollahi M, Dehpour AR, Rahimian R. 2015. Therapeutic Potential of Cannabinoids in Counteracting Chemotherapy-induced Adverse Effects: An Exploratory Review. *Phytotherapy Research* **29**:332–338.
- Páez PL, Becerra MC, Albesa I. 2010. Effect of the association of reduced glutathione and ciprofloxacin on the antimicrobial activity in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters* **303**:101–105.
- Pacher P, Bátkai S, Kunos G. 2006. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacological Reviews* **58**:389–462.
- Pacher P, Mechoulam R. 2011. Is lipid signaling through cannabinoid 2 receptors part of a protective system? *Progress in Lipid Research* **50**:193–211.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* **5**:e47.
- Pertwee RG 2008. The diverse CB 1 and CB 2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids:  $\Delta$  9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and  $\Delta$  9 -tetrahydrocannabivarin. *British Journal of Pharmacology* **153**:199–215.

- Pertwee RG, Roger G, Cascio MG. 2014. Known Pharmacological Actions of Delta-9-Tetrahydrocannabinol and of Four Other Chemical Constituents of Cannabis that Activate Cannabinoid Receptors. Pages 115–136 in Pertwee RG, editor. Handbook of Cannabis. Oxford University Press, Oxford.
- Pinault L, Chabrière E, Raoult D, Fenollar F. 2019. Direct Identification of Pathogens in Urine by Use of a Specific Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Spectrum Database. *Journal of Clinical Microbiology* **57**
- Poslanecká sněmovna parlamentu české republiky. 2015. Vyhláška č. 236 ze dne 4. září 2015 o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Pages 2978-2984 in Sběrka zákonů České republiky, 2015, částka 98. Česká republika.
- Ralph AP, Carapetis JR. 2013. Group A Streptococcal Diseases and Their Global Burden. *Microbiol Immunol* **368**:1–27.
- Rangsipanuratn W, Sandee A, Daduang J, Janwithayanuchit I. 2019. Antibacterial activity of snake venoms against bacterial clinical isolates. *Pharmaceutical Sciences Asia* **46**:80–87.
- Rhee MH, Vogel Z, Barg J, Bayewitch M, Levy R, Hanuš L, Breuer A, Mechoulam R. 1997. Cannabinol Derivatives: Binding to Cannabinoid Receptors and Inhibition of Adenylyl cyclase. *Journal of Medicinal Chemistry* **40**:3228–3233.
- Russo EB, Guy GW, Robson PJ. 2007. Cannabis, Pain, and Sleep: Lessons from Therapeutic Clinical Trials of Sativex®, a Cannabis-Based Medicine. *Chemistry & Biodiversity* **4**:1729–1743.
- Russo EB, Marcu J. 2017. Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. *Advances in Pharmacology* **80**:67–134.
- Russo EB. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology* **163**:1344–1364.
- Russo EB. 2013. Cannabis and Cannabinoids. Routledge.
- Sanguinetti M, Posteraro B, Romano L, Battaglia F, Lopizzo T, de Carolis E, Fadda G. 2006. In vitro activity of Citrus bergamia (bergamot) oil against clinical isolates of dermatophytes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **59**:305–308.
- Sayyah M, Nadjafnia L, Kamalinejad M. 2004. Anticonvulsant activity and chemical composition of *Artemisia dracunculoides* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology* **94**:283–287.
- Shah A, Hayes CJ, Martin BC. 2017. Characteristics of Initial Prescription Episodes and Likelihood of Long-Term Opioid Use — United States, 2006–2015. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* **66**:265–269.
- Shah BB, Mehta AA. 2018. In vitro evaluation of antioxidant activity of D-Limonene. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology* **4**:883–887.
- Sharkey KA, Darmani NA, Parker LA. 2014. Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids and the endocannabinoid system. *European Journal of Pharmacology* **722**:134–146.
- Schofs L, Sparo MD., Sánchez Bruni SF. 2021. The antimicrobial effect behind *Cannabis sativa*. *Pharmacology Research & Perspectives* **9**.

- Silva ACR, Lopes PM, Azevedo MMB, Costa DCM, Alviano CS, Alviano DS. 2012. Biological Activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene Enantiomers. *Molecules* **17**:6305–6316.
- Skala T, Kahánková Z, Tauchen J, Janatová A, Klouček P, Hubka V, Fraňková, A. 2022. Medical cannabis dimethyl ether, ethanol and butane extracts inhibit the in vitro growth of bacteria and dermatophytes causing common skin diseases. *Frontiers in Microbiology* **13**.
- Smith LA, Azariah F, Lavender VT, Stoner NS, Bettiol S. 2015. Cannabinoids for nausea and vomiting in adults with cancer receiving chemotherapy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2021.
- Stapleton PD, Taylor PW. 2002. Methicillin Resistance in *Staphylococcus Aureus*: Mechanisms and Modulation. *Science Progress* **85**:57–72.
- Strasser F, Luftner D, Possinger K, Ernst G, Ruhstaller T, Meissner W, Ko YD, Schnelle M, Reif M, Cerny T. 2006. Comparison of Orally Administered Cannabis Extract and Delta-9-Tetrahydrocannabinol in Treating Patients With Cancer-Related Anorexia-Cachexia Syndrome: A Multicenter, Phase III, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial From the Cannabis-In-Cachexia-Study-Group. *Journal of Clinical Oncology* **24**:3394–3400.
- Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M. 2006. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Progress in Lipid Research* **45**:405–446.
- Swick MC, Morgan-Linnell SK, Carlson KM, Zechiedrich L. 2011. Expression of Multidrug Efflux Pump Genes *acrAB-tolC*, *mdfA*, and *norE* in *Escherichia coli* Clinical Isolates as a Function of Fluoroquinolone and Multidrug Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **55**:921–924.
- Sytsma KJ, Morawetz J, Pires JC, Nepokroeff M, Conti E, Zjhra M, Hall JC, Chase MW. 2002. Urticalean rosids: circumscription, rosid ancestry, and phylogenetics based on *rbcl*, *trnL-F*, and *ndhF* sequences. *American Journal of Botany* **89**:1531–1546.
- Tagini F, Aubert B, Troillet N, Pillonel T, Praz G, Crisinel PA, Prod'hom G, Asner S, Greub G. 2017. Importance of whole genome sequencing for the assessment of outbreaks in diagnostic laboratories: analysis of a case series of invasive *Streptococcus pyogenes* infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **36**:1173–1180.
- Thakur GA, Duclos RI, Makriyannis A. 2005. Natural cannabinoids: Templates for drug discovery. *Life Sciences* **78**:454–466.
- Tian Y, Puganen A, Alakomi HL, Uusitupa A, Saarela M, Yang B. 2018. Antioxidative and antibacterial activities of aqueous ethanol extracts of berries, leaves, and branches of berry plants. *Food Research International* **106**:291–303.
- Tisserand R, Young R. 2014. *Essential oil safety*. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Touw M. 1981. The Religious and Medicinal Uses of Cannabis in China, India and Tibet. *Journal of Psychoactive Drugs* **13**:23–34.
- Turkez H, Aydın E, Geyikoglu F, Cetin D. 2015. Genotoxic and oxidative damage potentials in human lymphocytes after exposure to terpinolene in vitro. *Cytotechnology* **67**:409–418.

- Turner CE, Elsohly MA, Boeren EG. 1980. Constituents of Cannabis sativa L. XVII. A Review of the Natural Constituents. *Journal of Natural Products*. **43**:169–234.
- Upton R, ElSohly M. 2013. Cannabis inflorescence: *cannabis* spp. standards of identity, analysis, and quality control. *American Herbal Pharmacopoeia*.
- Varga Z. 2018.  $\beta$ -Caryophyllene protects against alcoholic steatohepatitis by attenuating inflammation and metabolic dysregulation in mice. *British Journal of Pharmacology* **175**:320–334.
- Vu TT, Kim H, Tran VK, Le Dang Q, Nguyen HT, Kim H, Kim IS, Choi GJ, Kim JC. 2015. In vitro antibacterial activity of selected medicinal plants traditionally used in Vietnam against human pathogenic bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **16**:32.
- Wang J, Ueda N. 2009. Biology of endocannabinoid synthesis system. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* **89**:112–119.
- Wassmann CS, Højrup P, Klitgaard JK. 2020. Cannabidiol is an effective helper compound in combination with bacitracin to kill Gram-positive bacteria. *Scientific Reports* **10**.
- White CM. 2019. A Review of Human Studies Assessing Cannabidiol's (CBD) Therapeutic Actions and Potential. *The Journal of Clinical Pharmacology* **59**:923–934.
- Whiting PF, et al. 2015. Cannabinoids for Medical Use. *JAMA* **313**:2456.
- Wood TB, Spivey WTN, Easterfield TH. 1899. III.—Cannabinol. Part I. *Journal of the Chemical Society, Transactions* **75**:20–36.
- World Health Organization. (2005). The current evidence for the burden of Group A Streptococcal diseases. World Health Organization
- Wright G. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews* **57**:1451–1470.
- Zala K, et al. 2023. Antimicrobial Properties of Different Hop (*Humulus lupulus*) Genotypes. *Plants*. **12**:120.
- Zettl UK, Rommer P, Hipp P, Patejdl R. 2016. Evidence for the efficacy and effectiveness of THC-CBD oromucosal spray in symptom management of patients with spasticity due to multiple sclerosis. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders* **9**:9–30.
- Zhang Q, Liu W, Ma W, Shi Y, Wu Y, Li Y, Liang S, Zhu Y, Zhou M. 2017. Spatiotemporal epidemiology of scarlet fever in Jiangsu Province, China, 2005–2015. *BMC Infectious Diseases* **17**:596.
- Zinkernagel AS, Zinkernagel MS, Elzi MV, Genoni M, Gubler J, Zbinden R, Mueller NJ. 2008. Significance of *Staphylococcus lugdunensis* Bacteremia: Report of 28 Cases and Review of the Literature. *Infection* **36**:314–321.
- Zipperer A, et al. 2016. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature* **535**:511–516.
- Zuardi AW. 2006. History of cannabis as a medicine: a review. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. **28**:153–157.

## 9 Seznam obrázků a tabulek

Obr. 1 Konopí (převzato Bonini et al. 2018) .....	10
Obr. 2 Samčí (A) a samičí (B) květy (převzato Bonini et al. 2018) .....	11
Obr. 3 Žláznaté trichomy (převzato Bonini et al. 2018) .....	12
Obr. 4 Syntéza fytoKANabinoidů (Mechoulam & Hanuš, 2000) .....	15
Obr. 5 Chemické struktury terpenů konopí (převzato z Russo & Marcu 2017).....	19
Obr. 6 Matečné rostliny (Ing. Kosmáková Janatová, Ph.D. 2022) .....	30
Obr. 7 Řízky z matečných rostlin (Ing. Kosmáková Janatová, Ph.D. 2022) .....	30
Obr. 8 Oscilační mlýn (Javůrková 2022).....	33
Obr. 9 Příklad SpeedVac na odpaření ethanolu (autor 2023) .....	34
Obr. 10 Mikrodiluční destička po inkubaci (autor 2023) .....	35
Tabulka 1 Hmotnosti sklizně sušeného květenství jednotlivých genotypů (g) .....	36
Tabulka 2 Inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus lugdunensis</i> u různých genotypů konopí...	37
Tabulka 3 Inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus saprophyticus</i> u různých genotypů konopí	37
Tabulka 4 Inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus aureus</i> (kmen 29213) u různých genotypů konopí .....	38
Tabulka 5 Inhibiční koncentrace <i>Staphylococcus aureus</i> (kmen 25923) u různých genotypů konopí .....	38