

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra rostlinné výroby**



**Obsah kanabinoidů ve vybraných chemotypech léčebného konopí**

Content of selected cannabinoids in inflorescence of medicinal cannabis chemotypes cultivated at CULS

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Daniel Melichar**

**Obor studia: Fytotechnika**

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

© 2017 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Obsah kanabinoidů ve vybraných chemotypech léčebného konopí" jsem vypracoval(a) samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské 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 bakalářské práce Ing. Adéle Fraňkové Ph.D. a konzultantce Ing. Anežce Janatové za jejich trpělivost, ochotu, věnovaný čas a rady, které mi věnovaly při psaní této práce. Dále chci poděkovat své rodině, přítelkyni a všem kamarádům, kteří mě po celou dobu podporovali.

# Obsah kanabinoidů ve vybraných chemotypech léčebného konopí

## Souhrn

V posledních letech došlo v mnoha zemích k legalizaci konopí a stále více se mluví o léčebném a terapeutickém využití. Ukazuje se, že kanabinoidy v něm obsažené, zejména tetrahydrokanabinol (THC) a kanabidiol (CBD) mají obrovský potenciál v medicíně. Bohužel je konopí stále bráno hlavně jako rekreační droga. Katedra rostlinné výroby na FAPPZ byla první institucí v ČR, která dostala v roce 2014 povolení pěstovat konopí s vyšším obsahem THC než 0,3 % pro výzkumné účely.

První část mé bakalářské práce je teoretická a shrnuje poznatky o konopí, jako je historie jeho využívání, základní botanickou klasifikaci, popis rostliny jako takové a současnou legislativu. V další části byly shrnuty poznatky o jeho biologicky aktivních látkách, zejména o kanabinoidech a dále byl popsán endokanabinoidní systém.

Praktická část mé práce byla zaměřena na vyhodnocení obsahu THC a CBD v šesti různých kultivarech konopí (Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington a Nordle). Obsah účinných látek v sušeném květenství každé rostliny byl analyzován pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID) dle metodiky OSN. Účelem analýzy bylo vybrat vhodný genotyp konopí z hlediska stability výnosu a obsahu účinných látek, které svým obsahem odpovídají vyhlášce 236/2015 Sb.

Na základě výsledků bylo zjištěno, že všech šest kultivarů konopí je vhodných pro léčebné využití z hlediska obsahu THC a CBD. Nejvyšší obsah THC byl naměřen u odrůdy Jack Skellington ( $16,60 \pm 1,3$  %), naopak nejmenší u odrůdy Nordle ( $13,63 \pm 0,68$  %). Průměrný obsah CBD byl u všech šesti kultivarů nižší než 1% a celkově nejvyšší obsah CBD byl zaznamenán u odrůdy Nurse Jackie ( $0,473 \pm 0,08$  %). Z hlediska výnosu a obsahu účinných látek se jako nejvhodnější jeví odrůdy Jacks Cleaner 2 a Jack Skellington.

**Klíčová slova:** léčebné konopí, genotyp, THC, CBD.

# **Content of selected cannabinoids in inflorescence of medicinal cannabis chemotypes cultivated at CULS**

## **Summary**

In recent years, cannabis has been legalized in many countries, and therapeutic use is increasingly being talked about. It turns out, that the cannabinoids especially tetrahydrocannabinol and cannabidiol, have a tremendous potential in medicine. Unfortunately, cannabis is still mainly taken as a recreational drug. The Department of Crop Production at FAPPZ was the first institution in the Czech Republic which have been authorized to grow cannabis with a THC content higher than 0.3 % in 2014 for research purposes.

The first part of my bachelor thesis is theoretical and summarizes the knowledge about cannabis, such as history of its use, basic botanical classification description of the plant itself and the current legislation. The second part describes biologically active substances, in particular cannabinoids. Further more the endocannabinoid system is described

The practical part was focused on the evaluation of amount THC and CBD in six different cannabis cultivars (Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington and Nordle). The content of active substances in the dried flowers was analyzed by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) according to UN methodology. The result of the analysis was the selection of a suitable genotype of cannabis from the point of view of the stability of the yield and the content of active substances, which corresponds to the Decree 236/2015 Sb.

Based on the results, it was found that all six varieties of cannabis are suitable for therapeutic use in terms of the content of THC and CBD. The highest THC content was measured for Jack Skellington ( $16.60 \pm 1.3\%$ ), the lowest for the Nordle variety ( $13.63 \pm 0.68\%$ ). The average CBD content was lower than 1 % for all six cultivars, and the highest CBD content was recorded for Nurse Jackie ( $0.473 \pm 0.08\%$ ). Considering the yield and content of active substances it can be concluded that the most promising varieties are Jacks Cleaner 2 and Jack Skellington.

**Key words:** medical cannabis, genotype, THC, CBD

# Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce .....	1
3 Literární rešerše.....	2
3.1 Historie konopí.....	2
3.2 Konopí ( <i>Cannabis</i> spp.).....	2
3.2.1 Popis rostliny.....	3
3.2.2 Konopí seté ( <i>Cannabis sativa</i> ).....	3
3.2.3 Konopí indické ( <i>Cannabis indica</i> ).....	4
3.2.4 Konopí rumištní ( <i>Cannabis ruderalis</i> ).....	4
3.3 Legislativa konopí pro léčebné účely.....	5
3.4 Biologicky aktivní látky .....	6
3.4.1 Kanabinoidy .....	6
3.4.2 Biosyntéza kanabinoidů .....	8
3.4.3 Tetrahydrokanabinol $\Delta^9$ -THC.....	9
3.4.4 Kanabidiol CBD.....	11
3.4.5 Ostatní kanabinoidy.....	12
3.5 Endokanabinoidní systém .....	12
4 Materiál a metodika.....	13
4.1 Genotypy konopí.....	14
4.2 Rostlinný materiál .....	15
4.3 Příprava rostlinného materiálu pro analýzu .....	18
4.3.1 Sušení a skladování .....	18
4.3.2 Příprava vzorků k analýze kanabinoidů .....	19
4.3.3 Příprava vzorků pro analýzu pomocí (GC/FID).....	20
4.4 Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID).....	23

5 Výsledky.....	24
5.1 Výnos odrůd .....	24
5.2 Obsah CBD .....	28
5.3 Obsah THC.....	32
6 Diskuze.....	36
7 Závěr.....	38
8 Seznam zkratk .....	38
9 Seznam použité literatury:.....	40
10 Seznam příloh.....	47

# 1 Úvod

Konopí, marihuana, tráva, to jsou pojmy, které určitě slyšel každý člověk. V této práci se budu zabývat právě konopím, které je nazýváno zázračná bylina. Léčivé účinky konopí jsou lidstvu známy po tisíciletí a byla by škoda jich nevyužít. Některé prameny uvádí, že lidstvo znalo konopí nejprve jako průmyslovou plodinu nejméně 10 000 let př. n.l., v jiných zdrojích se můžeme dočíst, že historie užívání konopí jako prostředek k dosažení stavu změněného vědomí je patrně ještě starší. Ať tak, či tak, rostliny konopí se rozšířily téměř do všech částí světa bez ohledu na klimatické podmínky. V současné době je konopí, jejíž hlavní účinnou složkou je psychoaktivní  $\Delta$ 9-tetrahydrokanabinol (THC), nejrozšířenější nelegální omamnou látkou a to nejen v Evropě, ale po celém světě. Ve většině států světa bylo konopí dlouhou dobu kriminalizováno. Přípravky z konopí byly po tisíce let užívány pro léčbu celé řady zdravotních obtíží, ale v dnešní době je legální využití v medicíně stále kontroverzní, přestože o konopí a kanabinoidech bylo publikováno přes 15000 vědeckých článků. Do dnešního dne bylo popsáno více než 1000 kultivarů konopí, nicméně je velmi těžké určit, která z těchto odrůd je nejvhodnější pro lékařské a terapeutické využití. V odborné literatuře se můžeme dočíst mnoho informací o pěstování a správném hnojení, zejména za účelem využitím konopí jako technické plodiny, tedy kvůli produkci konopného vlákna nebo semene. Ale vědecké publikace, které by popisovaly faktory, jenž hrají významnou roli ve zvyšování obsahu biologicky aktivních látek, zejména kanabinoidů stále chybí. V této práci se zaměřuji na dva nejvýznamnější kanabinoidy, které mají největší lékařský potenciál, kterými jsou THC a CBD. Konopí bylo pěstováno v 6 pěstebních cyklech a pěstovaly se stejné kultivary a to z toho, abychom zjistili, které jsou nejstabilnější jak z hlediska výnosu, tak z hlediska obsahu účinných látek.

## 2 Cíl práce

Mezi šesti vybranými genotypy konopí existují prokazatelné rozdíly v obsahu kanabinoidů. Cílem práce bylo zhodnotit stabilitu výnosu a obsahu THC a CBD u jednotlivých pěstovaných odrůd za 6 pěstebních cyklů a vybrat alespoň jeden genotyp odpovídající vyhlášce 236/2015 Sb.



## 3 Literární rešerše

### 3.1 Historie konopí

Nejstarší záznam o použití konopí člověkem pochází z ostrova Tchaj-wan, ležící u pobřeží Číny a jsou staré více než 10 000 let (doba kamenná). Jedná se o úlomky keramiky ozdobené konopným vláknem (Abel, 1980). Původ rostliny můžeme najít v centrální Asii nebo v Číně, kde se konopí na vlákno pěstovalo již před 5000 lety (Gabrielová, 2008). Konopí patří mezi první rostliny, které člověk začal pěstovat. Bylo zjištěno, že konopí bylo pěstováno za účelem výroby tkanin, provazů, oleje a v neposlední řadě jako lék. Jsou důkazy jeho používání jako psychotropní látky, například při náboženských obřadech (Booth, 2004). První zmínky o použití konopí pro léčebné využití jsou zaznamenány v lékopisu Pen-Tsao Ching, otce tradiční čínské medicíny císaře Shen-Nunga a jsou z období 2700 let př. n. l. (Mathre, 1997). Jeden z nejzachovalejších důkazů o použití konopí pro lékařské účely, je nález z pohřebiště v poušti Gobi ve střední Asii, starý 2800 let. Byly nalezeny pouze samičí části rostlin, což svědčí o tom, že si lidé byli vědomi většího množství THC v samičím květenství (Russo *et al.*, 2008). Do Evropy se konopí dostalo v 7. století př. n. l., a to zásluhou Skytů. Přes jižní část Ruska se konopí dále šířilo severní cestou přes Litvu, Nizozemí a Švédsko až do Anglie a jižní cestou přes Řecko a Itálii se konopí rozšířilo do severní Afriky a Španělska odkud se díky španělským kolonistům dostalo až do Ameriky (Gabrielová, 2008). Konopí hrálo velkou roli ve formování Ameriky. Koloniální úředníci v 18. stol. podporovali pěstování konopí, z něhož se pletla lana, provazy a byl to také zdroj pro papírenský průmysl. Po válce severu proti jihu se stalo konopí dokonce měnou. Prezidenti George Washington a Thomas Jefferson také na svých pozemcích tuto rostlinu pěstovali (Debnár, 2005). Na konci 19. století se stalo konopí součástí mnoha medikamentů nejen na lékařský předpis. K tomuto kroku vedlo zjištění lékařů a vědců, že konopí a jeho deriváty jsou účinné proti celé řadě onemocnění. Konopí bylo označeno za lék a bylo předepisováno na nemoci jako jsou lepra, vzteklna, tetanus, dna, křečové onemocnění a mnoho dalších (Conrad, 2001).

### 3.2 Konopí (*Cannabis spp.*)

Konopí a jeho klasifikace do určité čeledi byl a stále je problém. Botanici nejprve mysleli, že patří do jedné rodiny s kopřivami (čeleď kopřivovité, *Urticaceae*), poté ho zařadili mezi

morušovníkovité (*Moraceae*), kde můžeme nalézt i fikovník. Dnes patří konopí do samotné čeledi, do konopovitých (*Cannabaceae*).

### 3.2.1 Popis rostliny

Konopí je jednoletá bylina rostoucí v každém podnebí s výjimkou pouští a polárních oblastí. Jedná se o kvetoucí, semennou rostlinu. Její kořenový systém se skládá z hlavního kořene, dorůstající do hloubky až 40 centimetrů a mnoha postranních kořínků. Vzhled rostliny je podobný kořenovému systému. Z pod povrchu půdy vyrůstá jeden hlavní stonek, ze kterého vyrůstají další větve. Listy konopí jsou dlanité a pilovité a mění se v závislosti s tím, jak rostlina dozrává. První listy mají pouze jeden lístek, plně vzrostlá rostlina konopí má obvykle sedmi až devíti čtené listy, nicméně není neobvyklé, že může mít i jedenácti čtené listy (Adams, 2012). Konopí je dvoudomý typ rostliny, nicméně pohlavní fenotyp rostlin konopí projevuje značnou flexibilitu a s tím je spojen výskyt hermafroditních jedinců, nebo oboupohlavních květů (monoecie) (Moliterni, 2004). Samčí rostliny jsou zpravidla vyšší s delšími internodii a dozrávají dříve. Květy se vyskytují téměř po celé rostlině, kde vytváří malé hrozny, ze kterých se po dozrání vypustí pyl. Samičí rostlina vytváří hrozny květů skládající se z pohárků a pestíků (Miovský a kol., 2008). Kvetení u konopí nastává, když se zkracuje den, jelikož je konopí krátkodenní rostlina. V uzavřeném pěstebním prostoru můžeme dosáhnout začátku kvetení uměle a to zkrácením fotoperiody na méně než 12 hodin (Knight *et al.*, 2010). Konopí je rozděleno do dvou skupin. Technické konopí a konopí určené pro léčebné účely. Nicméně technické konopí může být taky léčivé, jelikož může obsahovat velké množství CBD a léčebný potenciál CBD je větší než u THC. Kritérium, které rozhodne, do které skupiny dané konopí patří, je obsah THC v sušině apikálního vrcholu rostliny (Rustichelli, 1998). Poddruhy konopí a jejich vzhled jsou uvedeny na obrázku č. 1. Konopí lze rozmnožovat vegetativně takzvaně „řízkováním“ a nebo generativně (Clark, 1993).

### 3.2.2 Konopí seté (*Cannabis sativa*)

Konopí seté botanicky správně začlenil až Carolus Linnaeus, švédský „otec botaniky“, jenž ho v roce 1753 opatřil botanickým názvem (*Cannabis sativa*). Konopí seté je nejrozšířenější odrůdou konopí, dorůstající výšky až 6 metrů (Booth, 2004). Rostlina je nepříliš olistněná a její listy jsou jemné. Průběh kvetení je pomalý a daří se mu v zemích jako jsou například Mexiko, Kolumbie nebo Thajsko (Adams, 2012). Kromě hospodářsky

využívaných rostlin sem také patří odrůdy, které mají vysoký obsah THC a mohou navodit euforické stavy (Ruman, 2014). Jeho účinky jsou povznášející, povzbuzující, stimulující, uvolňující a omamné (Adams, 2012). Konopí seté má běžně obsah THC od 0,01 do 13% (Miovský a kol., 2008). Rostlina konopí setého pěstovaná v ideálních podmínkách pod umělým osvětlením, může mít obsah THC převyšující hladinu 33 % (ElSohly *et al.*, 2000).

### **3.2.3 Konopí indické (*Cannabis indica*)**

Roku 1783 slavný francouzský přírodovědec Jean Baptiste Lamarck přišel s tím, že konopí rostoucí v Evropě je natolik odlišné od konopí pěstovaného v Indii, že by se konopí indické mělo považovat za samostatný poddruh. Rostlinu znovu klasifikoval a indické rostliny nazval podle země původu konopí indické (*Cannabis indica*) (Booth, 2004). Rostlina konopí indického je menšího vzrůstu, zpravidla 1,2 až 2,5 metrů vysoká, bujně olistněná s širšími listy než je tomu u konopí setého. Roste v oblastech kolem 30° severní šířky v zemích jako jsou Maroko, Afghánistán, Pákistán, nebo Libanon. Vytváří pevné květy bohaté na pryskyřici, z níž se vyrábí hašiš. Pod širým nebem dozrávají rostliny velmi brzy a to koncem srpna až začátkem září (Adams, 2012). Jedny z nejznámějších kultivarů konopí indického jsou Afghani No. 1 a Hindu Kush, které si získaly velkou oblibu mezi pěstiteli (ElSohly, 2007). Jejich účinky jsou více tlumící a omamné, protože mají vysoký obsah CBN (Adams, 2012).

### **3.2.4 Konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*)**

Roku 1924 ruský botanik Janiševský zkoumající konopí rostoucí v Povolží, v oblasti západní Sibíře a střední Asie rozpoznal třetí samostatný poddruh, který nazval konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*) (Booth, 2004). Je to velmi malá rostlina dorůstající výšky 30-60 cm. Roste v zeměpisných pásmech nad 30° severní šířky, kde velmi brzy nastává zima a proto má málo času na dozrání. S tímto faktem je spojena rychlost kvetení, která se využívá k vytvoření brzy kvetoucích hybridů z rostlin, jenž kvetou pomalu, jako je například konopí seté (Adams, 2012).

Obrázek č. 1.

- **Konopí seté** (*Cannabis sativa*)
- **Konopí indické** (*Cannabis indica*)
- **Konopí rumištní** (*Cannabis ruderalis*)



### 3.3 Legislativa konopí pro léčebné účely

V České Republice je možné pěstovat rostliny konopí s obsahem THC maximálně 0,3 % k průmyslovým, technickým či zahradnickým účelům (Miovský a kol., 2008). Konopí pro medicijnální účely, které může mít obsah THC vyšší než 0,3 %, lze pěstovat pouze na základě licence vydané Ministerstvem zdravotnictví České Republiky (Mz ČR). Pěstovat konopí pro léčebné použití může jen taková právnická nebo podnikající fyzická osoba, která splnila podmínky zadávací dokumentace vydané Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL). Veškeré náležitosti týkající se léčebného konopí má na starosti Státní agentura pro konopí pro léčebné použití (SAKL). SAKL uděluje licence k pěstování konopí pro léčebné použití, dále zajišťuje výkup vypěstovaného a sklizeného konopí a jeho distribuci, případně zajišťuje jeho vývoz mimo území ČR (SAKL).

S platností od 1. dubna roku 2013 v České Republice platí zákon č. 50/2013 Sb., zákon, kterým se mění zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. Tento zákon má zpřístupnit pacientům léčebné konopí legální cestou. Na základě elektronického předpisu mělo být pacientům dostupné v lékárnách. S dekriminací léčebného konopí v České Republice souvisí další právní předpisy a jsou to zákon č. 137/2006 Sb., o veřejných zakázkách a zákon č. 552/1991 Sb., o státní kontrole. V červenci roku 2013 byl zákon č. 50/2013 Sb., doplněn vyhláškou č. 221/2013 Sb., která byla 4. září 2015 novelizována

vyhláškou č. 236/2015 Sb. Touto vyhláškou se stanovují podmínky pro předepisování, přípravu, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Dále vyhlášky č. 84/2008 Sb., o správné lékařské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivými v lékárnách, zdravotních zařízeních a u dalších provozovatelů a zařízení vydávající léčivé přípravky a vyhláška č. 54/2008 Sb., o způsobu předepisování léčivých přípravků, údajích uváděných na lékařském předpisu a o pravidlech používání lékařských předpisů. Vyhláška č. 236/2015 Sb. přesně stanovuje kvalitativní parametry, které konopí musí splňovat. Dále udává, že konopí může být podáno pacientům, kteří jsou starší 18 let a to v množství nepřesahující 180 gramů sušeného konopí za jeden měsíc. Indikace, na které je možné léčebné konopí předepsat, je např.: chronická neutišitelná bolest (zejména bolest v souvislosti s onkologickým onemocněním, bolest spojená s degenerativním onemocněním pohybového systému, systémovým onemocněním pojiva a imunopatologickými stavy, neuropatická bolest, bolest při glaukomu). Přesné znění vyhlášky spolu s dalšími indikacemi je v příloze č.1.

### **3.4 Biologicky aktivní látky**

V roce 1914 byl patentován proces pro extrakci farmakologicky účinných látek z konopí, ale bylo zapotřebí nových technik pro izolaci čistých složek. V první polovině 20. století byl izolován a byla popsána chemická struktura nejprve kanabinolu (CBN) (slabě psychotropní látka) a později kanabidiolu (CBD) (nep psychotropní látka) (Fišar, 2009). Za nejúčinnější složku konopí jsou považovány kanabinoidy, které jsou často spojovány s analgetickými, protizánětlivými, antioxidačními a mnoha dalšími účinky. Nicméně rostlina konopí produkuje dalších nejméně 483 chemických sloučenin. Mezi primární metabolity konopí patří vitamíny, antioxidanty, aminokyseliny, mastné kyseliny nebo sacharidy (ElSohly, 2007). Mezi sekundární metabolity, které rostlina konopí produkuje patří: kanabinoidy, terpeny, flavonoidy, alkaloidy a lignany (Turner *et al.*, 1980). Nejprozkoumanější a také farmakologicky nejdůležitější biologicky aktivní látky konopí jsou kanabinoidy a zejména THC a CBD (Miovský a kol., 2008).

#### **3.4.1 Kanabinoidy**

*Cannabis sativa* L. obsahuje více než 480 chemických látek, z nich největší zájem vědců je o kanabinoidy, které ovlivňují neurotransmisi, čímž pravděpodobně modifikují plasticitu

mozku (Tyrliková, 2012). Mezi kanabinoidy patří všechny látky, které mohou být rozpoznány kanabinoidním systémem. V dnešní době jsou to tři základní skupiny kanabinoidů, z nich první jsou rostlinné kanabinoidy nazývané fyto-kanabinoidy, druhou skupinou jsou endogenní kanabinoidy neboli endokanabinoidy, ty jsou syntetizovány podle potřeby v těle organismu a do poslední skupiny patří syntetické kanabinoidy, které jsou uměle vytvořené (Fišar, 2008). Ačkoliv v 60. letech minulého století byly izolovány kanabinoidy jako jsou kanabidiol (CBD), kanabigerol (CBG), kanabichromen (CBC), kanabidivarin (CBDV) a tetrahydrokanabivarin (THCV), drtivá většina výzkumu se zaměřovala právě na psychoaktivní THC (Russo, 2011).

V konopí se nachází 66 fyto-kanabinoidů s typickou 21-uhlíkovou strukturou (Nečas, 2011). Po chemické stránce patří fyto-kanabinoidy mezi terpeno-fenolické sloučeniny, které jsou typické pouze pro konopí (Brenneisen, 2007). Některé fyto-kanabinoidy neprodukuje přímo rostlina konopí, ale jsou produktem rozpadu jiných fyto-kanabinoidů (Izzo *et al.*, 2009). Kanabinoidy, které jsou nejvíce zastoupeny v konopí jsou THC a CBD. Nicméně u některých chemotypů konopí bylo zjištěno, že kanabinoid THCV převyšuje hladinu THC a CBD (Hillig and Mahlberg, 2004). Chemická struktura kanabidiolu (CBD), jakožto jednoho ze dvou hlavních kanabinoidů byla objasněna teprve roku 1963, ale již roku 1940 proběhla jeho izolace (Mechoulam and Shvo, 1963).

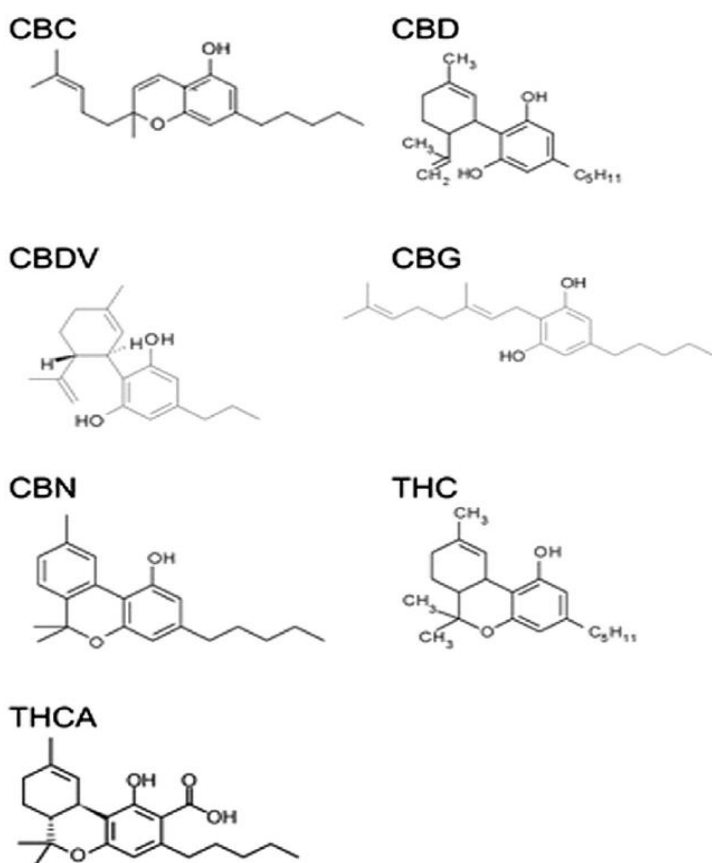
Obsah účinných látek v rostlinách konopí je značně nestálý jak po stránce kvantitativní, tak po stránce kvalitativní (nejzásadnější je poměr THC: CBD). Tyto parametry jsou určovány jak genetickými vlastnostmi rostlin, tak vnějšími vlivy jako jsou: složení půdy, množství dodaných živin, osvětlení, teplota, vlhkost vzduchu a v neposlední řadě choroby a škůdci (Lužný a Povolná, 2013). Největší vliv na výnos a obsah kanabinoidů má genetická predispozice pěstovaných rostlin (Brenneisen, 2007).

Teplota hraje roli při tvorbě kanabinoidů, ale pouze ve spojení s dostupnou vlhkostí. Boucher (1974) uvádí, zvýšení obsahu kanabinoidů při pěstování konopí při teplotě 32 °C oproti pěstování při teplotě 22 °C, nicméně se zvýšením teploty souvisí ztráta vody v důsledku rychlého odpařování a transpirací rostlinami, což musí pěstitel při kultivaci brát v potaz. Latta a Eaton (1975) uvádějí, že hořčík (Mg) a železo (Fe) jsou důležité pro syntézu THC, což naznačuje, že tyto živiny mohou sloužit jako enzymové kofaktory. Bylo zjištěno, že velký vliv jak na výnos, tak na obsah kanabinoidů má světlo. Při pokusu bylo použito vždy 16 rostlin na 1 m<sup>2</sup>, genetika Super Skunk a rostliny byly pěstovány pod 600W a 400W světlem.

Rozdíl průměrného výnosu na 1 m<sup>2</sup> činí 105g. Obsah THC je pod 400W světlem 14,3% a obsah CBD je 0,3%. Oproti tomu rostliny pěstované pod 600W světlem mají obsah THC 15,2% a CBD 0,4% (Vanhove *et al.*, 2011).

Kanabinoidy jsou syntetizovány v sekrečních buňkách v trichomech, které se nachází na povrchu všech částí rostliny s výjimkou semen a kořene. Největší koncentrace jich je u neoplozených samičích rostlin (Russo, 2011). Syntéza kanabinoidů probíhá především na vrcholu stopky a v hlavičce žlásky. Vzniklá pryskyřice je tvořena kanabinoidy z 80-90 % (Dupal, 1994).

Obrázek č. 2: Chemická struktura fytkanabinoidů (Rosenthaler *et al.*, 2014)



### 3.4.2 Biosyntéza kanabinoidů

Prvním meziproductem je v procesu biosyntézy kanabinoidů kyselina olivetolová. Zmíněná kyselina reaguje s geranyl difosfátem nebo s neryl difosfátem za vzniku kanabigerolu, přesněji řečeno kyseliny kanabigerolové (CBGA), která je výchozí látkou pro ostatní kanabinoidy (Fellremeier and Zenk, 1998). To činí z olivetolové kyseliny velmi důležitý

metabolit v procesu biosyntézy kanabinoidů, nicméně samotná biosyntéza olivetolové kyseliny není doposud zcela objasněna. Vzhledem k její chemické struktuře je možné, že je syntetizována cyklizací polyketosloučeniny. Tento polyketid je tvořen kondenzací molekuly n-hexanoyl-CoA s třemi molekulami malonyl-CoA. Kondenzační a cyklizační reakce jsou katalyzovány polyketidsyntázou (Raharjo *et al.*, 2003). Konopí produkuje kanabinoidy primárně ve formě karboxylových kyselin (Russo and McPartland, 2003). Mezi jedny z nejdůležitějších karboxylových kyselin patří kyselina  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolová (THCA-A) a kyselina kanabidiolová (CBDA), které jsou syntetizovány z jejich prekurzoru CBGA (Wohlfarth *et al.*, 2011). Kanabinoidy jsou syntetizovány v nestabilní formě karboxylových kyselin, které se v rostlině nachází v daleko vyšších koncentracích oproti neutrálním kanabinoidům (Mechoulam and Ben-Shabat, 1999). K tomu aby se z kyselin staly aktivní, neboli neutrální kanabinoidy, musí projít dekarboxylací neenzymatickými reakcemi (vlivem tepla, světla) (Sirikantaramas *et al.*, 2005).

### 3.4.3 Tetrahydrokanabinol $\Delta^9$ -THC

THC je hlavní psychoaktivní složkou *Cannabis sativa* (Zima, 2012). Strukturu THC téměř správně určil Adams – struktura byla správná, ale nepodařilo se mu správně určit polohu dvojné vazby v terpenickém cyklu. Gaoni a Mechoulam (1964) popsali chemickou strukturu delta-9-trans-tetrahydrokanabinolu neboli  $\Delta^9$ -THC a dále uvedli, že má psychoaktivní účinky. THC patří mezi omamné látky, proto je obsah THC v rostlině důležitým faktorem pro rozlišení fenotypu dané rostliny. V roce 1964 byla publikována práce Františka Šantavého, ve které určil správně nejen polohu dvojné vazby v terpenickém cyklu kanabidiolu, kyseliny kanabidiolové a tetrahydrokanabinolu, ale také správně určil jejich absolutní konfiguraci. Po zjištění psychoaktivní látky zbývalo určit, jak vlastně působí na lidský organismus. Až v roce 1988 William Devane objevil v mozku krys kanabinoidní receptory, na které se  $\Delta^9$  THC váže (Hanuš, 2012).

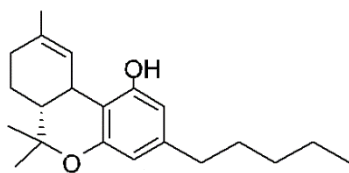
THC je v rostlině *Cannabis sativa* L. typu „drug“ nejběžnější fyto-kanabinoid (de Meijer *et al.*, 2003). Vyskytuje se téměř ve všech kultivarech konopí, nicméně v různém množství, od stopového až po 95% ze všech obsažených kanabinoidů (Dupal, 1994). Vzniká dekarboxylací kyseliny tetrahydrokanabinolové a je nestálý na světle. Při přímém osvětlení a špatném skladování podléhá THC oxidaci na kanabinol (CBN) (Razdan *et al.*, 1972). Maximální obsah



$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolu získaný dekarboxylací kyseliny tetrahydrokanabinolové při simulaci kouření může překročit 30% (Dussy *et al.*, 2005).

Tetrahydrokanabinol (THC) se obvykle rozumí izomer  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC, dříve  $\Delta^1$ -3,4-trans-tetrahydrokanabinol). Chemicky se jedná o (6aR, 10aR)-6a,7,8,10a-tetrahydro-6,6,9-trimethyl-3-pentyl-6H-dibenzo[b,d]pyran-1-ol (C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>, MW 314,47).  $\Delta^9$  THC aktivuje kanabinoidní receptory typu 1 (CB1) a typu 2 (CB2) (Fišar, 2006). Z farmakologického hlediska se pod THC zahrnuje i propylderivát THC a delta-8tetrahydrokanabinol, ačkoli zmíněný  $\Delta^8$ -THC vykazuje o 20 % nižší psychoaktivní efekt oproti  $\Delta^9$ -THC (Brenneisen, 2007). Strukturální vzorec THC je uveden na obrázku č. 3. THC se může do krevního řečiště dostat inhalací, orálním požitím nebo intravenózně. Prvotní metabolismus nastává v plicích nebo v játrech, kde je hlavním aktivním metabolitem 11-hydroxy- $\Delta^9$ -THC (11-OH-THC), tento metabolit se mění na nepsychoaktivní 11-nor-9-karboxy- $\Delta^9$ -THC, jenž se váže na tukovou tkáň (Fišar, 2006). Zhruba po 30 minutách se tento metabolit zpět uvolní do krevního oběhu a dostává se do mozku, kde působí psychoaktivně (Stafford, 1997).

THC je farmakologicky nejvýznamnější sloučenina vyskytující se v konopí. Rozsah léčebných účinků je velmi široký, z nichž jeden z nejdůležitějších je tlumení nevolnosti a zvracení u pacientů trpících onkologickým onemocněním (Sallan *et al.*, 1975). Jelikož zájem o THC rostl, farmakologické firmy uvedly do prodeje jeho syntetické analogy, mezi které patří například Marinol (legalizován v USA) a Cesamet (legalizován v UK). Marinol je syntetická forma sloučeniny dronabinol (mezinárodní nechráněný název pro  $\Delta^9$ -THC) a je prodáván rozpuštěný v sezamovém oleji v želatinových kapslích. Účinnou látkou Cesametu je nabilon (syntetický analog  $\Delta^9$ -THC). Tyto syntetické formy THC pomáhají pacientům po chemoterapii tlumit zvracení, drabinol k tomu podporuje chuť k jídlu při nechutenství a kachexii pacientů s AIDS (Hanuš, 2009). V současnosti jediným registrovaným léčivem s obsahem kanabinoidů na území ČR je Sativex. Je registrován pro zlepšení symptomů u dospělých pacientů se středně těžkou až těžkou spasticitou způsobenou roztroušenou sklerózou (Peč, 2013).

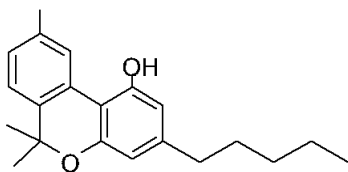
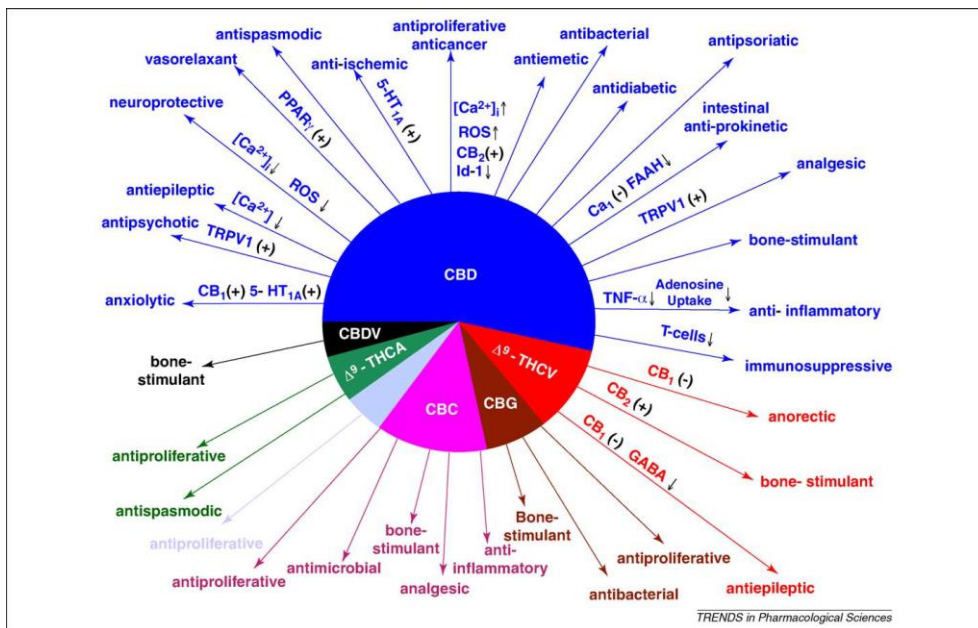


**Obrázek č. 3:** Strukturní vzorec THC (Fišar, 2006)

### 3.4.4 Kanabidiol CBD

Kanabidiol (CBD) je hlavní nepsychotropní kanabinoid obsažený v rostlině konopí. Vyskytuje se téměř ve všech odrůdách, od nulových hodnot po zhruba 95% všech přítomných kanabinoidů (Dupal, 1994). Poprvé byl izolován v roce 1940 Adamsem a jeho spolupracovníky, nicméně jeho chemickou strukturu stanovili v roce 1963 Mechoulam a Shvo (Izzo *et al*, 2009). Strukturní vzorec CBD je uveden na obr. č. 5. CBD výrazně potlačuje povzbuzující účinky THC, posouvá počátek působení konopí a naopak dobu účinku prodlužuje až trojnásobně (Zuardi *et al*, 2006). Poměr  $\Delta$ 9-THC k CBD může být u rostlin pěstovaných v tropických oblastech (10:1 i vyšší) a v severnějších zemích (až 1:2) (Fišar, 2006). Odrůdy konopí s vysokým obsahem CBD jsou využívány především v léčebné oblasti díky širokému spektru léčebných účinků, které můžeme vidět na obrázku č. 4. Bylo zjištěno, že CBD má spoustu farmakologicky prospěšných účinků. Mezi nejdůležitější účinky CBD patří analgetické, protizánětlivé, sedativní, antiepileptické a antischizofrénní (ElSohly, 2007). CBD je silnější neuroprotektivní antioxidant než kyselina askorbová (vitamín C), nebo tokoferoly (vitamín E). Dále může být CBD potencionálně užitečný terapeutický prostředek pro léčbu neurologických poruch, jako je mozková ischemie (Hampson *et al*, 1998). Příznivě působí i při léčbě Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby (Iuvone *et al*, 2004). CBD má protizánětlivý a imunopresivní vliv a mírní artritidu (Malfait *et al*, 2000).

**Obrázek č. 4:** Farmakologické účinky nepsychoaktivních kanabinoidů (Izzo *et al*, 2009).



Obrázek č. 5: Strukturální vzorec CBD (Fišar, 2006)

### 3.4.5 Ostatní kanabinoidy

Další významný kanabinoid, nicméně pro moji práci méně důležitý, je kanabinol (CBN). Byl izolován roku 1896 na univerzitě Cambridge Woodem a jeho kolegy. Jeho správná chemická struktura byla stanovena Adamsem roku 1940. CBN je oxidačním produktem THC, proto v čerstvých rostlinách konopí je obsaženo pouze stopové množství, ale špatné skladování a sušení může zapříčinit přeměnu THC na CBN a tím snížení kvality (Izzo *at al*, 2009). CBN vykazuje pouze 10% psychoaktivní účinek oproti THC (ElSohly, 2007). Mezi další kanabinoidní látky izolované z rostlin konopí patří např.: kanabigerol (CBG), kanabichromen (CBC) a tetrahydrokanabivarin (THCV) (Miovský a kol., 2008). Tyto látky vznikají při odbourávání nebo při rozkladu THC, nevytváří je rostlina jako taková (Booth, 2004).

## 3.5 Endokanabinoidní systém

Díky izolaci čistého rostlinného  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolu (THC) a stanovení jeho chemického vzorce v 60. letech minulého století a následného zkoumání jeho účinků, byly v organizmu

obratlovců včetně člověka zmapovány specifické kanabinoidní receptory (Šulcová, 2012). V roce 1988 byl objeven endokanabinoidní systém (ES) s receptorem označeným CB<sub>1</sub>, tedy kanabinoidní receptor 1. O 5 let později, roku 1993 byl objeven a popsán druhý typ receptoru s označením CB<sub>2</sub>. Dále je popisována existence receptoru CB<sub>3</sub> s označením GRP55, u kterého je také předpokládán vztah k řadě fyziologických procesů (Peč, 2013). Endokanabinoidní systém (ES) je endogenní signální systém, který se stává z receptorů CB<sub>1</sub> a CB<sub>2</sub>, jejich endogenních ligandů (endokanabinoidů) a enzymů pro jejich biosyntézu a degradaci. Součástí endokanabinoidního systému se navzájem ovlivňují a příznivě přispívají k vitalitě organismu. Receptory CB<sub>1</sub> se nacházejí v srdci a cévním systému, v mozku, v játrech a v kosterních svalech. Receptory CB<sub>2</sub> jsou exprimovány v imunitním systému a posléze také v centrální nervové soustavě. Receptory CB<sub>1</sub> a CB<sub>2</sub> působí přes G-proteiny negativně na adenylátcyklázu a pozitivně na mitogenem aktivovanou proteinkinázu. (Kvasnička, 2008). Bylo zjištěno, že počet CB<sub>1</sub> receptorů je v předním mozku o mnoho vyšší, než v zadní části mozku a míše (Tsou *et al*, 1998) a také, že CB<sub>1</sub> receptory jsou odpovědné za psychotropní účinky kanabinoidů (Tyrlíková, 2012). Fytokanabinoidy umožnily průzkum kanabinoidních CB receptorů a tím odhalily tělu vlastní látky působící jako antagonisté na CB receptorech (Peč, 2013). Endogenní kanabinoidy jsou lipofilní signální molekuly, které splňují podmínky pro zařazení mezi neurotransmitery. Nejrozšířenějším endokanabinoidem je 2-arachidonoyl-glycerol (2-AG), nejprozkoumanějším endokanabinoidem je anandamid (N-arachidonylethanolamid, AEA), ale existují další molekuly, které patří mezi endokanabinoidy. AEA, 2-AG jsou odvozeny od kyseliny arachidonové, což je významná nenasycená mastná kyselina vázaná v membránových fosfolipidech (Fišar, 2008).

## 4 Materiál a metodika

Rostliny konopí byly pěstovány na Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů (FAPPZ) pod vedením Ing. Anežky Janatové v letech 2015 a 2016. Pro stanovení obsahů THC a CBD byl použit plynový chromatograf s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID) uvedeném na Obrázku č. 16. Veškerá naměřená data byla vyhodnocena programem Statistica 12 (USA) a pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) a Tukey testu na hladině významnosti  $\alpha=0,05$ .

## 4.1 Genotypy konopí

V tabulce č. 1 je uvedena základní charakteristika 6 zkoumaných chemotypů druhů *Cannabis sativa* a *Cannabis indica* a jejich kombinace, které byly zkoumány a u nichž byly změřeny obsahy kanabinoidů THC a CBD v rámci této bakalářské práce. Jsou to chemotypy s názvy Conspiracy Kush (CK), Jillybean (JB), Jacks Cleaner 2 (JC), Jack Skellington (JS), Nordle (N) a Nurse Jackie (NJ).

Tabulka č. 1: Charakteristika zkoumaných chemotypů konopí

	Šlechtitel	Možnosti pěstování	Křížené odrůdy	Poměr Sativa/Indica (%)	Sklizeň	Indikace
<b>Conspiracy Kush</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Obama Kush x Space Gueen	30/70	55-60 dny	Relaxační, nespavost, stres, bolest, únava, deprese
<b>Jillybean</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Unknown Orange Skunk x Romulan x Cindy 99 BCGA	60/40	8 týdnů	Stres, deprese, bolest, únava, nevolnost
<b>Jacks Cleaner 2</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Pluton x Purple Haze x Lambsbread x NL x Jack Herer x Jack	80/20	8-10 týdnů	Deprese, únava, oční tlak, stres, bolest

			The Ripper Male			
<b>Jack Skellington</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Cindy 99 x G13 x Jacks Cleaner x Space Queen	70/30	8 týdnů	Stres, deprese, bolest, nevolnost, nechutenství
<b>Nordle</b>	Mr Nice Seedbank	Indoor/Outdoor	Afgan x Skunk	20/80	8-10 týdnů	Bolest, svalové křeče, relaxační efekt, zánět, stres, únava
<b>Nurse Jackie</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Medicine Woman x Jack the Ripper	85/15	8-9 týdnů	Zánět, oční tlak, bolest hlavy, stres, nespavost

(zdroj: <http://www.tgagenetics.com/>; <https://www.leafly.com/>; <http://en.seedfinder.eu/> )

## 4.2 Rostlinný materiál

V pěstební místnosti byl ještě menší stan o rozměrech 1x1x2m pro mateřskou rostlinu a malé klony (obr. č. 6). Byly pěstovány kultivary uvedené v Tabulce č.1., V kultivační místnosti o rozměrech 2 m<sup>2</sup> byly rostliny pěstovány v substrátu (rašelina, zeolit) pod dvěma 400W sodíkovými výbojkami (obr. č. 7). Rostliny byly pravidelně hnojeny hnojivou značkou Advanced hydroponics ofHolland. Jedná se o univerzální hnojivo, která se používají při

indoor pěstování ve všech pěstebních substrátech. Toto hnojivo se skládá ze tří složek a jsou to GROW, BLOOM a MICRO. Poměr NPK tohoto hnojiva je 2,5-1,2-6 (%) pH vody bylo upravováno na hodnoty 5,8-6,2 a to za pomoci kyseliny dusičné a zálivka probíhala automaticky pomocí kapkové závlahy, teplota vzduchu v místnosti byla udržována v rozmezí 25-30 °C. Vlhkost vzduchu byla udržována v rozmezí 40-70 % v závislosti na vegetační fázi rostlin. (<http://www.advancedhydroponics.nl/>)

**Obrázek č. 6:** Pěstební box pro mateřské rostliny a klony



**Obrázek č. 7:** Sodíkové výbojky osvětlující konopí



**Obrázek č. 8:** Vzduchotechnika, zásobník a čerpadlo na vodu





## 4.3 Příprava rostlinného materiálu pro analýzu

Zkoumané rostliny byly pěstovány v šesti pěstebních cyklech. Postupně byly některé odrůdy vyřazeny z důvodu opylení nebo uvadnutí mladých rostlin (řízků).

### 4.3.1 Sušení a skladování

Samičí květenství, které bylo zbaveno listů (obrázek č. 9) bylo sušeno v sušárně (ECOCELL, BMT) (obr. č. 10), při 30 °C po dobu 14 dní. Poté byl materiál skladován ve vzduchotěsných sáčcích při teplotě -18 °C.

**Obrázek č. 9:** Listů zbavené květenství



**Obrázek č. 10:** Sušárna ECOCELL s přirozenou cirkulací vzduchu



#### **4.3.2 Příprava vzorků k analýze kanabinoidů**

Sklizené a usušené květenství bylo homogenizováno pomocí elektrického mlýnku (Valentino – KONCEPT KM-5001, CZ). Ze směsi bylo odváženo 100 mg vzorku pro analýzu, zbytek byl uzavřen do vzduchotěsných sáčků a uschován pro další zpracování.

**Obrázek č. 11:** Homogenní směs konopí



#### **4.3.3 Příprava vzorků pro analýzu pomocí (GC/FID)**

Nejprve bylo naváženo 100 mg homogenizované rostlinné směsi do 20 ml šroubovací vialky (obr. č. 12) na analytické váze (Obrázek č. 13) a poté bylo napipetováno 10 ml roztoku interního standardu ( $c_{IS}=0,5$  mg/ml). Jako interní standard byl použit tribenzylamine (TBA) (Sigma-Aldrich, CZ) rozpuštěný v 96 % ethanolu. Takto připravený vzorek byl 15 min extrahován v ultrazvukové lázni (obr. č. 14). Alikvot (0,5 ml) vyextrahovaného vzorku byl převeden do 2 ml GC krimpovací vialky. Vialky byly umístěny na topnou jednotku, kde byly 12 minut při teplotě 150 °C (obr. č. 15). Při tomto procesu došlo k odpaření rozpouštědla a k dekarboxylaci. Následně bylo do vialky na pipetováno 1,5 ml etanolu, vialky byly uzavřeny, protřepány a na plynovém chromatografu s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID) byl změřen obsah THC a CBD. Analýza jednotlivých vzorků probíhala ve třech opakováních.

**Obrázek č. 12:** Navážený homogenizovaný rostlinný materiál



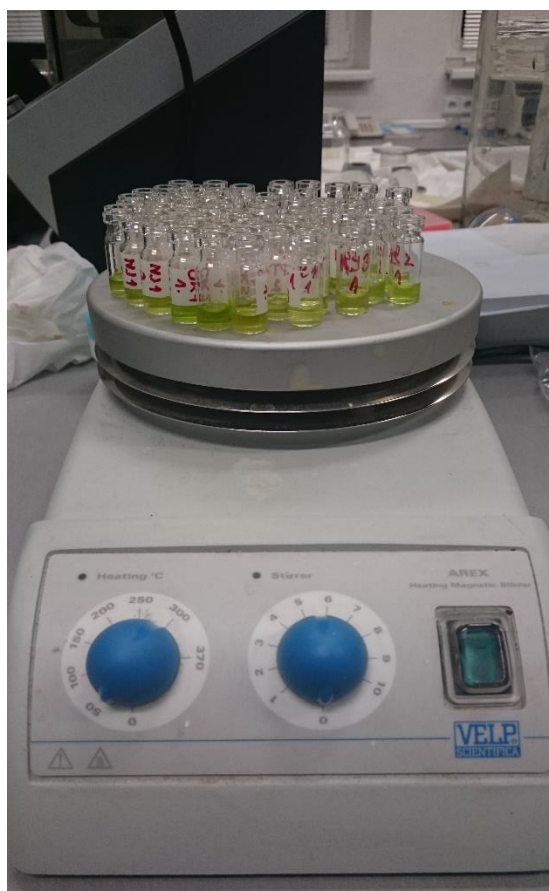
**Obrázek č. 13:** Analytická váha Santorius CPA224S-OCE (Česká Republika)



Obrázek č. 14: Ultrazvuková lázeň Bandelin SONOREX Digitec (Německo)



Obrázek č. 15: 2 ml vialky na topné jednotce před odpařením rozpouštědla



## 4.4 Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID)

Obsah THC a CBD byl stanoven na GC/FID plynovém chromatografu. Analýza probíhá na koloně DB5 (5 % difenyl a 95 % dimethylpolysiloxane). Zebron (USA) s rozměry 15 m x 0.25 mm, 0.25  $\mu$ m. Nosný plyn byl dusík s konstantním průtokem 1.1 ml/min. Vzorek (1,5  $\mu$ l) byl na kolonu dávkován v režimu split (20:1) při teplotě 280 °C. Teplotní program pece byl následující: začal při teplotě 200 °C po dobu 2 minut, poté každou minutu vzrostla teplota o 10 °C až na teplotu 240 °C, která byla udržována po dobu 2 minut. Teplota detektoru byla 300 °C a nástřik byl 1.5  $\mu$ l. Metodika je shodná s verifikovanou metodou United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC).

**Obrázek č. 16:** Agilent Technologies 6890N – Network GC system (USA)



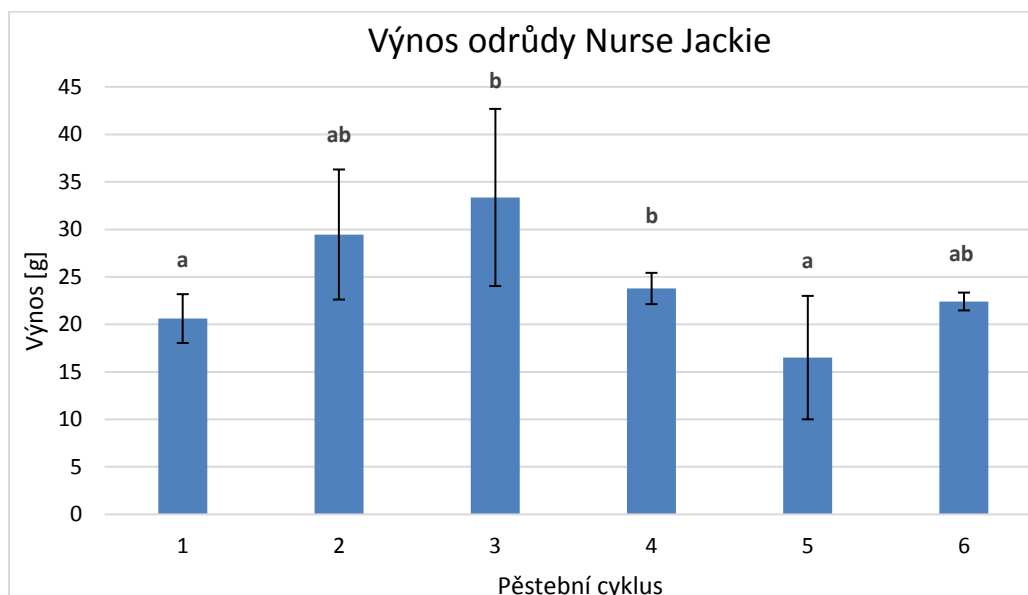
## 5 Výsledky

Výsledkem analýzy bylo vyhodnocení naměřených obsahů THC a CBD u šesti různých kultivarů léčebného konopí, které bylo pěstováno pod umělým osvětlením v šesti pěstebních cyklech. Bylo vyhodnocováno kolísání obsahu THC a CBD mezi pěstebními cykly v rámci jedné odrůdy, dále byl hodnocen průměrný obsah THC a CBD každé jedné odrůdy za šest pěstebních cyklů. Posledním hodnoceným faktorem byl výtěžek kultivarů v jednotlivých pěstebních cyklech a průměrný výtěžek jedné odrůdy za šest cyklů.

### 5.1 Výnos odrůd

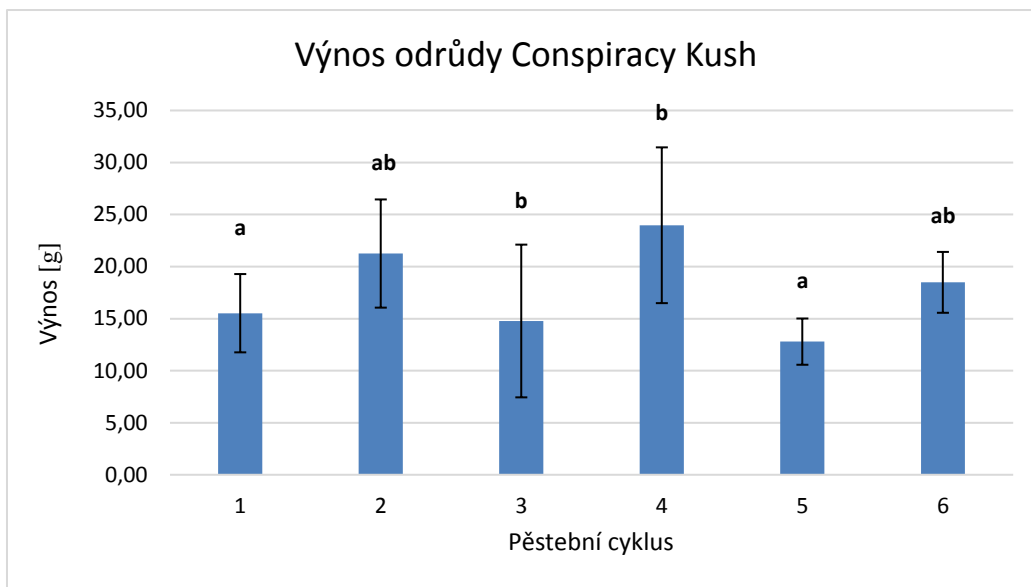
V následujících šesti grafech je graficky znázorněn výtěžek odrůd v jednotlivých pěstebních cyklech. V grafu č.7 můžeme vidět průměrný výtěžek jednotlivých odrůd za šest cyklů. Na základě výpočtů, které jsou graficky znázorněny v grafech 1-6, byl zjištěn významný rozdíl ve výtěžku mezi jednotlivými pěstebními cykly v rámci jedné odrůdy.

**Graf č. 1:** Výnos odrůdy Nurse Jackie (g) v jednotlivých pěstebních cyklech



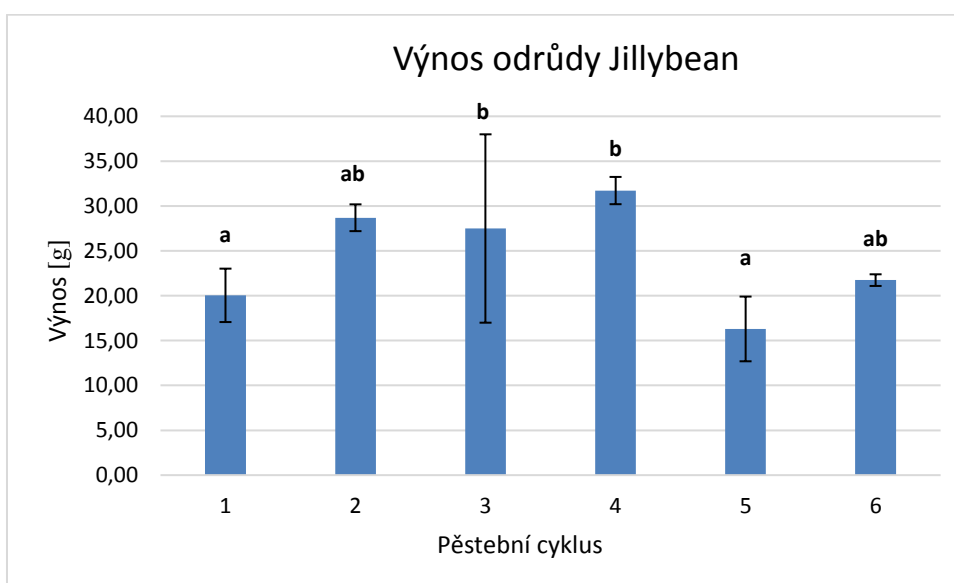
\***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 2:** Výnos odrůdy Conspiracy Kush (g) v jednotlivých pěstebních cyklech



\***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

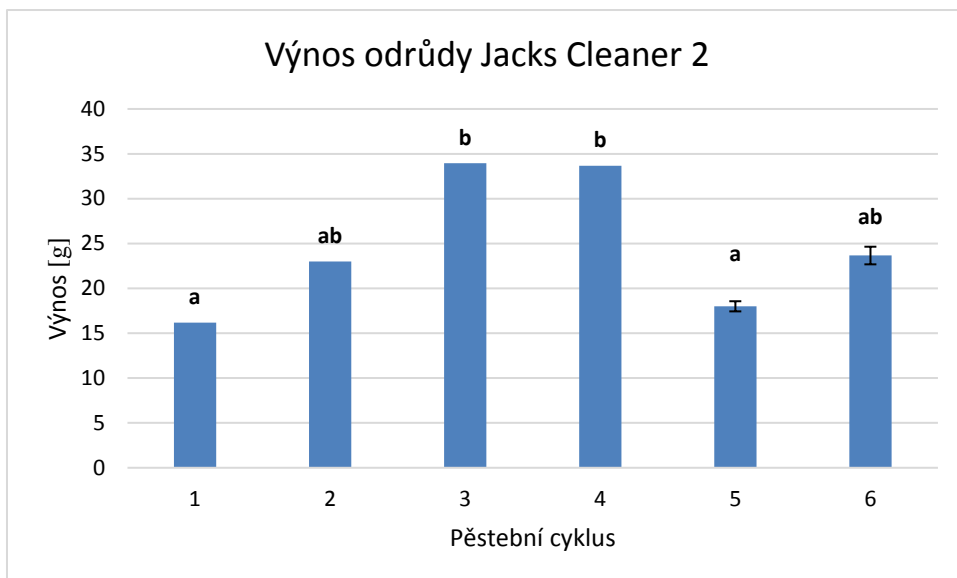
**Graf č. 3:** Výnos odrůdy Jillybean (g) v jednotlivých pěstebních cyklech



\***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

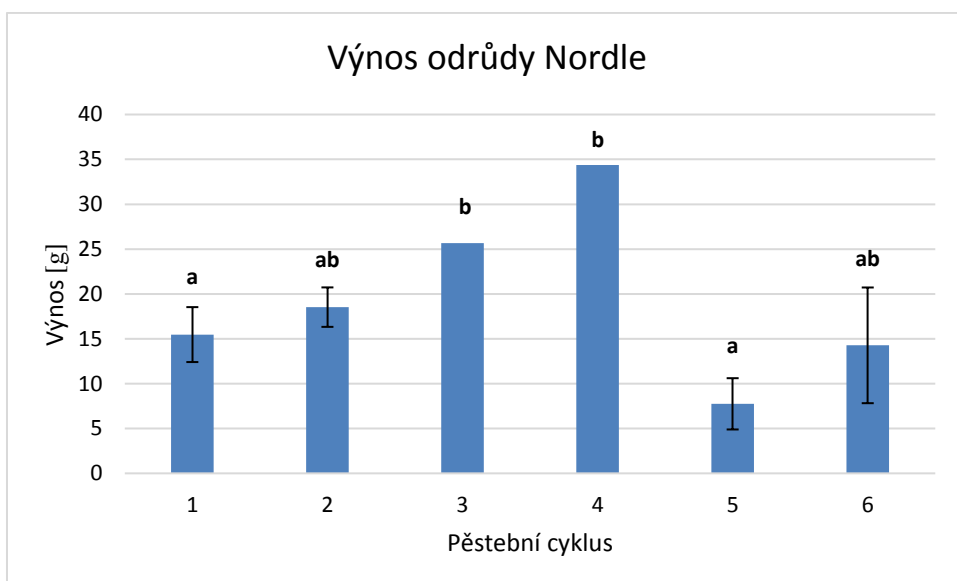
**Graf č. 4:** Výnos odrůdy Jacks Cleaner 2 (g) v jednotlivých pěstebních cyklech





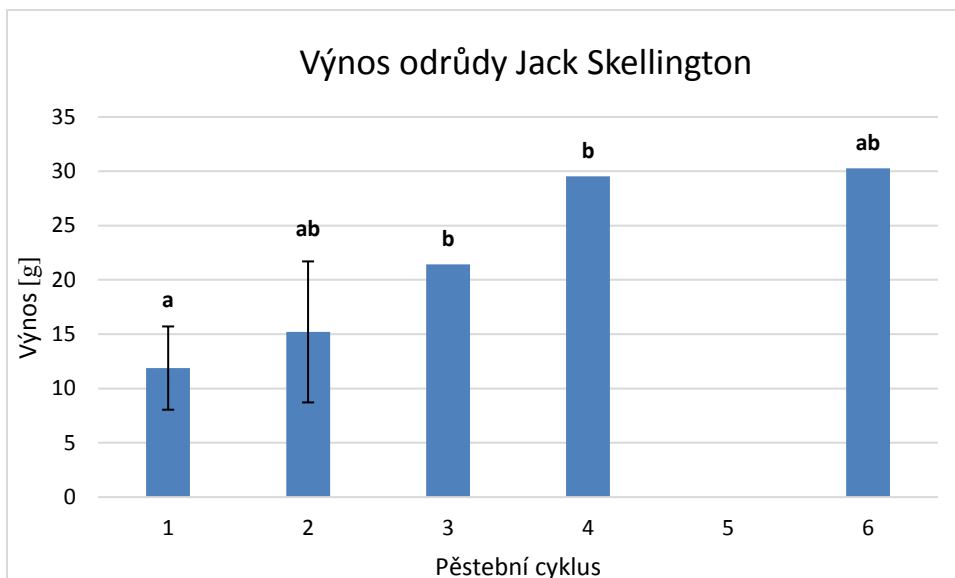
\***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 5:** Výnos odrůdy Nordle (g) v jednotlivých pěstebních cyklech



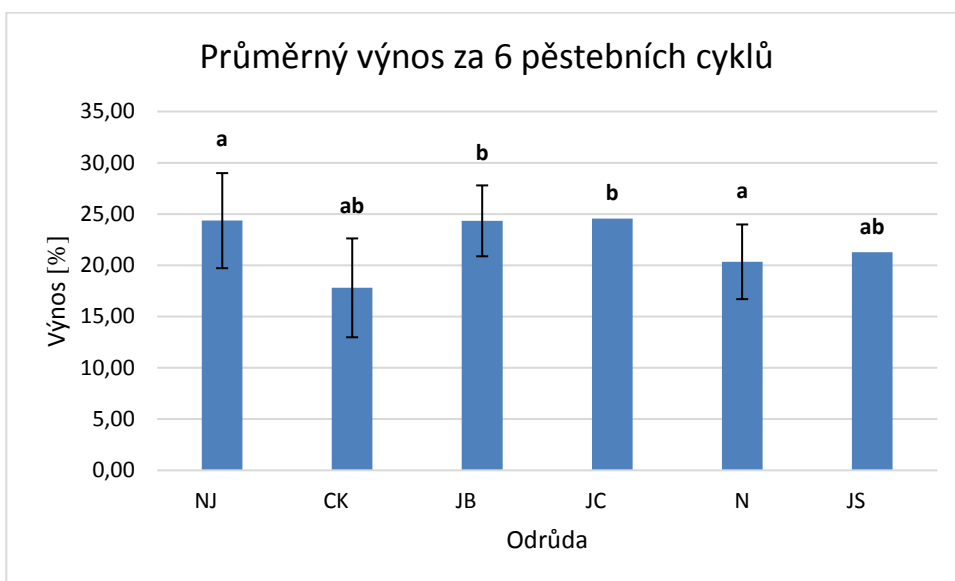
\***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 6:** Výnos odrůdy Jack Skellington (g) v jednotlivých pěstebních cyklech



\***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 7:** Průměrný výnos jednotlivých odrůd za šest pěstebních cyklů



\***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku. **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jacks Cleaner 2, N – Nordle, JS – Jack Skellington.

Z celkové sklizně nezávisle na odrůdě bylo sklizeno nejvíce při druhém pěstebním cyklu, a to 459,2 g. Nejmenší výnos byl v pátém cyklu, kde bylo sklizeno pouze 245,69 g. Grafy číslo 1-6 ukazují výnos kultivarů v jednotlivých pěstebních cyklech, kde největší výnos vykazuje

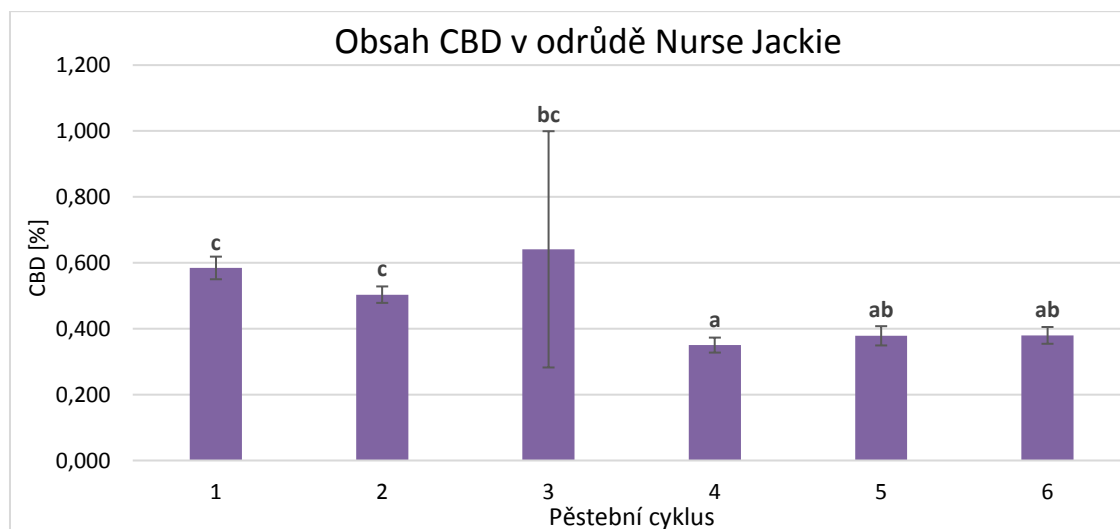
odrůda Nordle (34,38 g) ve čtvrtém pěstebním cyklu a Jacks Cleaner 2 (33,95 g) ve třetím pěstebním cyklu. Naopak nejmenší výnos vykazuje odrůda Nordle (7,75 g) v pátém cyklu a Jack Skellington (11,88 g) v prvním pěstebním cyklu. U odrůdy Jack Cleaner 2 byla pěstována pouze jedna rostlina v prvních čtyřech cyklech, poté se počet zvýšil na dvě rostliny. V grafu č.6 můžeme vidět, že chybí pátý cyklus odrůdy Jack Skellington, která byla vyřazena z důvodu opylení. Směrodatné odchylky v grafu 4, 5 a 6 chybí z toho důvodu, že byla hodnocena pouze jedna rostlina dané odrůdy a tudíž byl nedostatek dat.

Z grafu č. 7 můžeme vyčíst, že nejvyšší průměrný výnos za šest pěstebních cyklů vykazuje odrůda Jacks Cleaner 2 (24,56 g) těsně následovaná odrůdou Nurse Jackie (24,35 g) a odrůdou Jillybean (24,33 g), naopak nejmenší výnos byl zaznamenán u odrůdy Conspiracy Kush (17,80 g). Na základě výpočtů, které jsou graficky znázorněny v grafu č.7, byl zjištěn významný rozdíl ve výnosu mezi odrůdami.

## 5.2 Obsah CBD

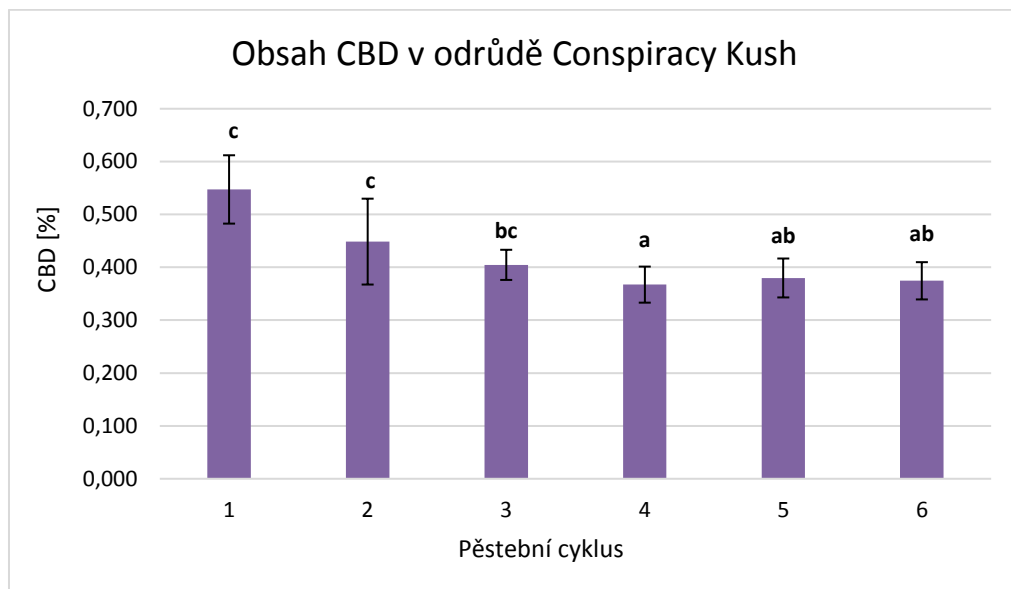
V následujících šesti grafech je graficky znázorněno kolísání obsahu CBD mezi pěstebními cykly v rámci jedné odrůdy a v posledním grafu můžeme vidět průměrný obsah CBD za šest cyklů. Na základě výpočtů, které jsou graficky znázorněny v grafech 8-13, byl zjištěn významný rozdíl v obsahu CBD mezi jednotlivými pěstebními cykly v rámci jedné odrůdy.

**Graf č. 8:** Obsah CBD v odrůdě Nurse Jackie v jednotlivých pěstebních cyklech



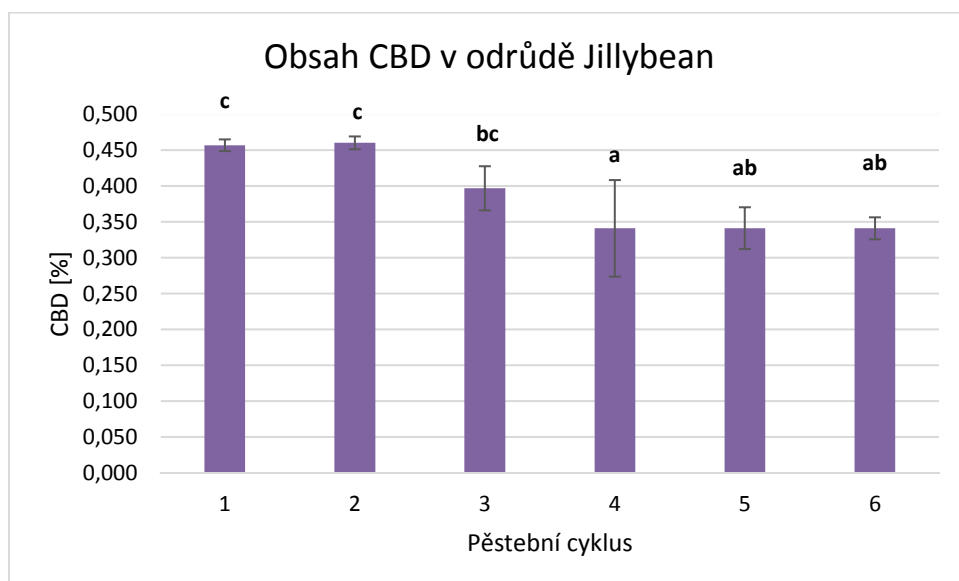
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 9:** Obsah CBD v odrůdě Conspiracy Kush v jednotlivých pěstebních cyklech



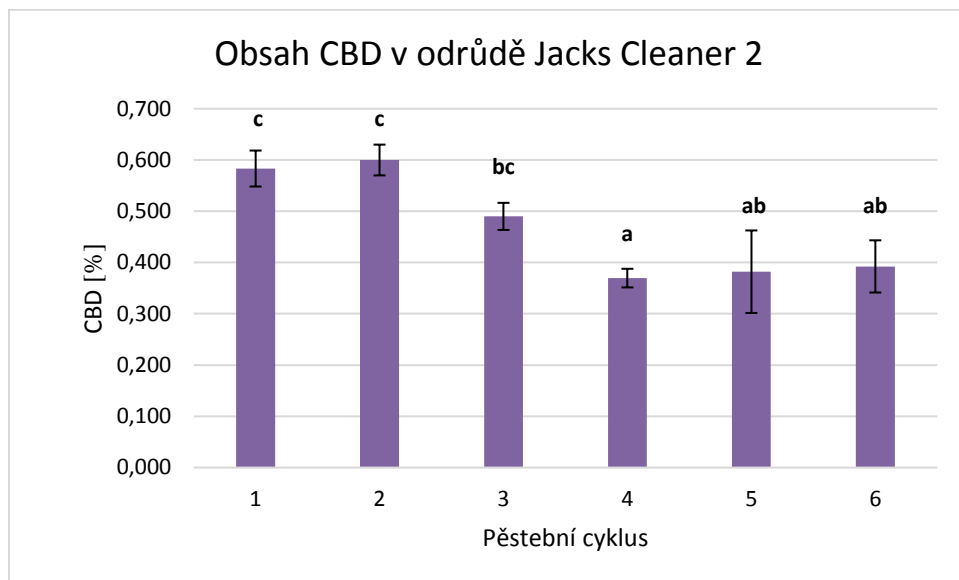
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 10:** Obsah CBD v odrůdě Jillybean v jednotlivých pěstebních cyklech



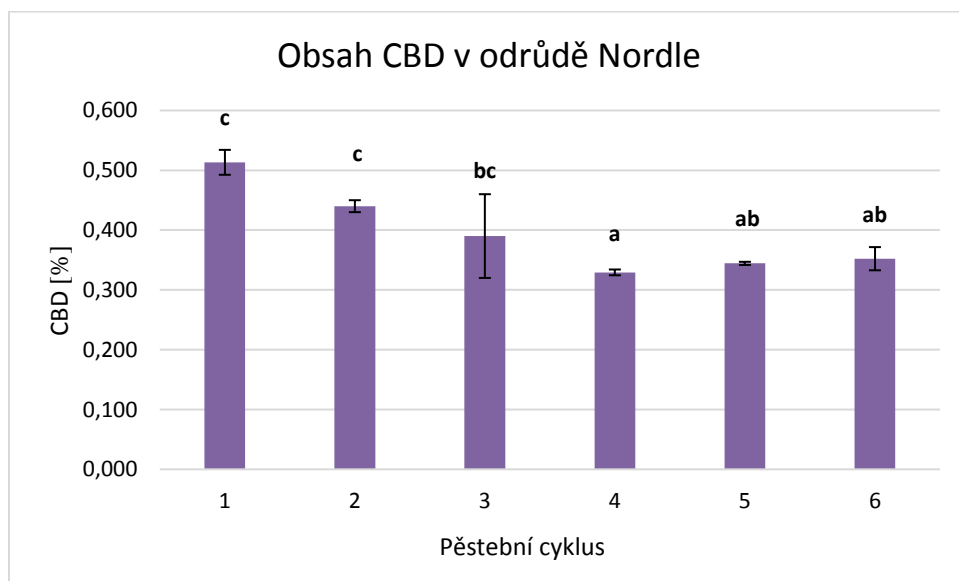
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 11:** Obsah CBD v odrůdě Jacks Cleaner 2 v jednotlivých pěstebních cyklech



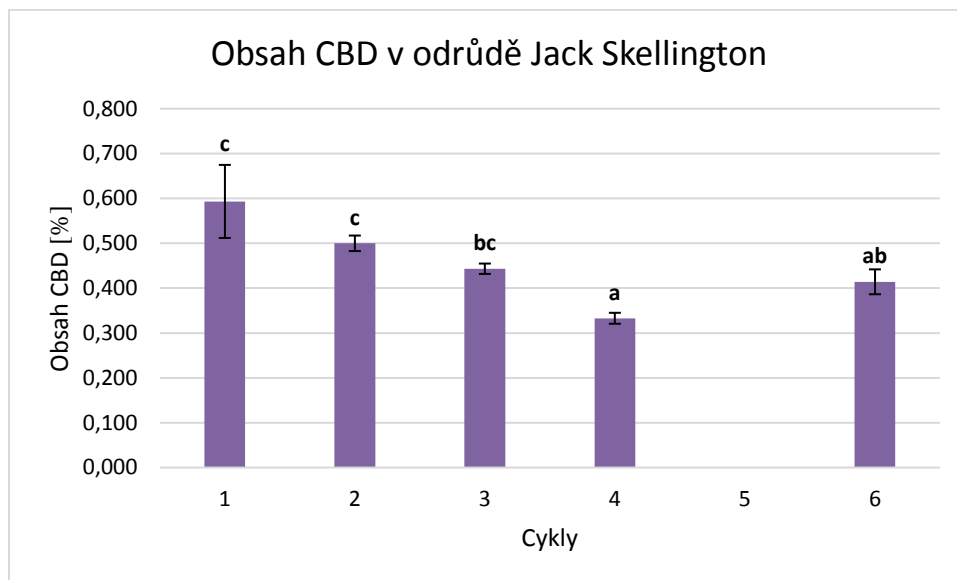
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 12:** Obsah CBD v odrůdě Nordle v jednotlivých pěstebních cyklech



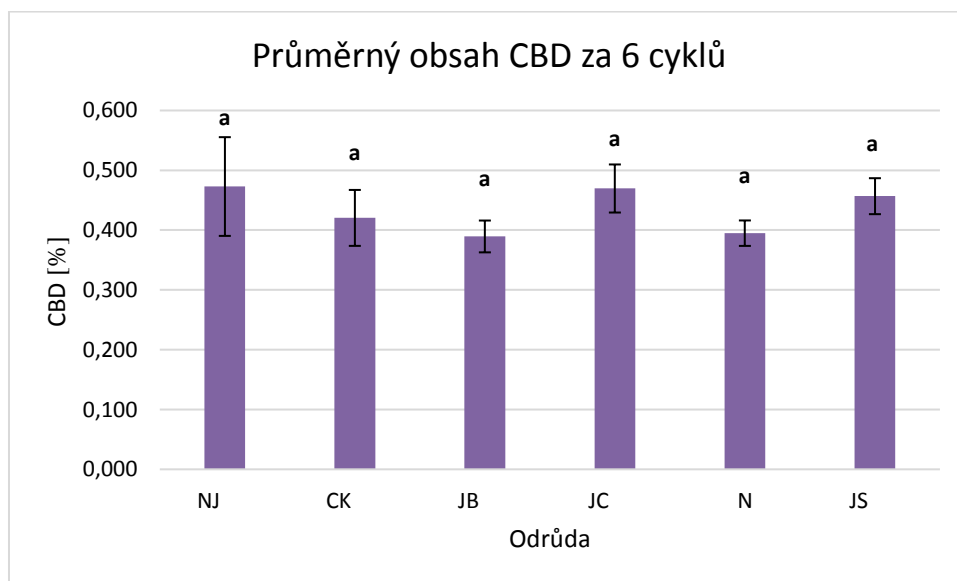
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 13:** Obsah CBD v odrůdě Jack Skellington v jednotlivých pěstebních cyklech



\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 14:** Průměrný obsah CBD v jednotlivých odrůdách za 6 pěstebních cyklů



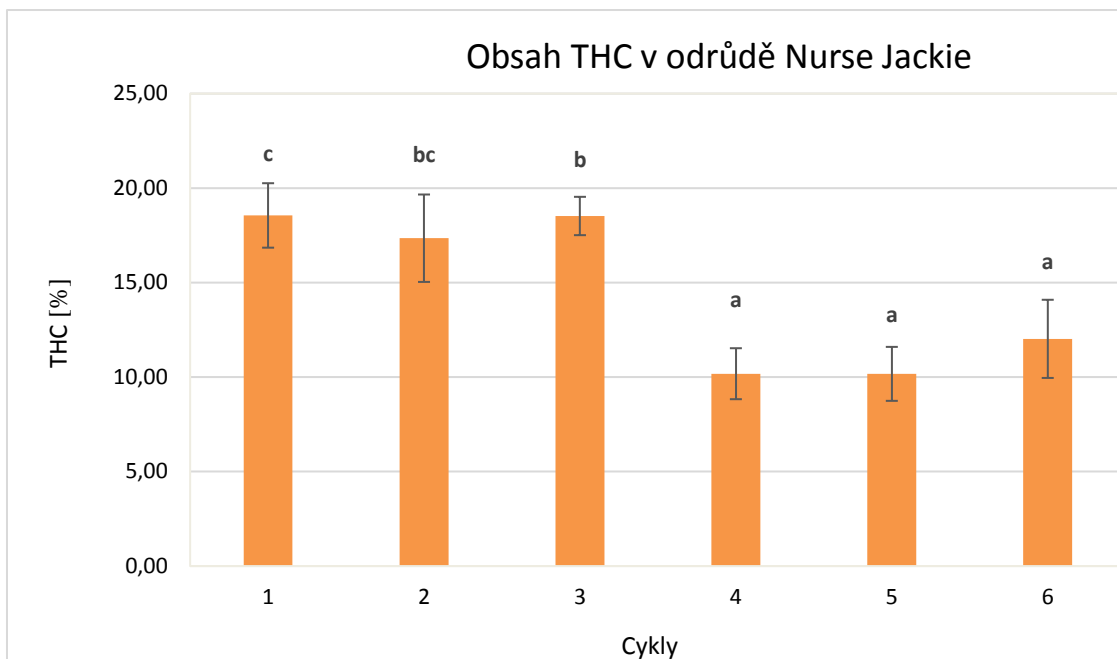
\***Stejná písmena** (a) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku. **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jacks Cleaner 2, N – Nordle, JS - Jack Skellington.

Z grafů č. 8-13 je zřejmé, že obsah CBD v prvních 3 cyklech je vyšší než u cyklů 4-6. Postupné klesání hodnoty CBD v květenství může být způsobeno nestálostí odrůd, nebo způsobem rozmnožování rostlin a s tím spojenou degradací. Celkově nejvyšší obsah CBD byl naměřen u třetího cyklu odrůdy Nurse Jackie (0,641 %) nicméně byl pozorován značný rozptyl v obsahu CBD, který mohl být způsoben např. nestálostí odrůdy nebo chybou měření. Nejnižší obsah CBD byl naměřen ve čtvrtém pěstebním cyklu u odrůdy Nordle (0,329 %). Celkově byl první a druhý cyklus nejpotentnější z hlediska obsahu CBD a celkově nejmenší obsah CBD byl zaznamenán ve čtvrtém cyklu. V rámci jednotlivých cyklů mezi odrůdami lze tvrdit, že obsah CBD nebyl příliš stabilní. V grafu č.13 můžeme vidět, že chybí pátý cyklus odrůdy Jack Skellington, která byla vyřazena z důvodu opylení. Z grafu č. 14 vyplývá, že obsah CBD v květenství rostlin, mezi jednotlivými odrůdami nebyl statisticky průkazný. Nejvyšší průměrná hodnota CBD byla zjištěna u odrůdy Nurse Jackie ( $0,473 \pm 0,083$  %) a odrůdy Jacks Cleaner 2 ( $0,470 \pm 0,040$  %), naopak nejmenší průměrný obsah CBD byl zjištěn u odrůdy Jillybean ( $0,389 \pm 0,027$  %).

### 5.3 Obsah THC

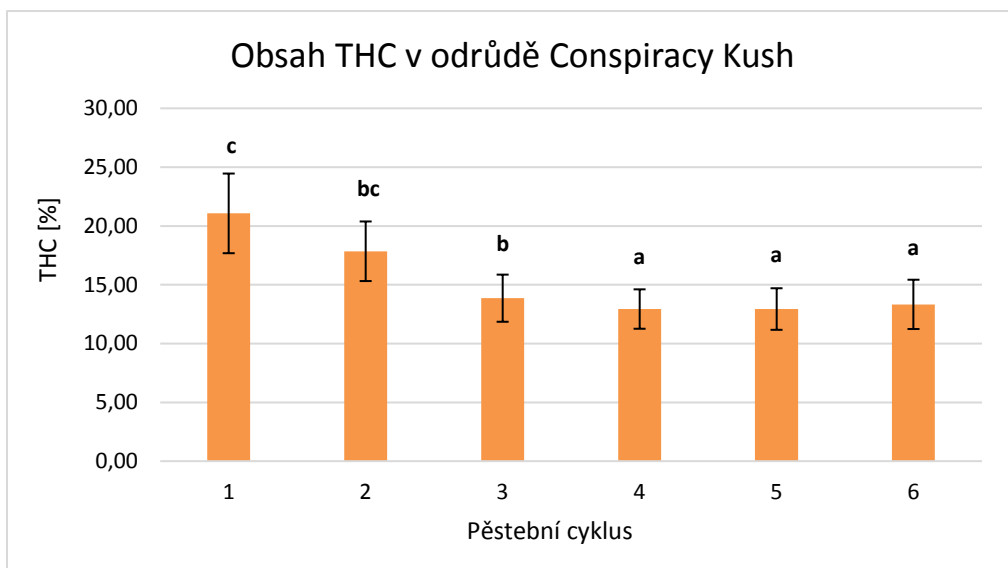
V následujících šesti grafech je graficky znázorněno kolísání obsahu THC mezi pěstebními cykly v rámci jedné odrůdy a v posledním grafu můžeme vidět průměrný obsah THC za šest cyklů. Na základě výpočtů, které jsou graficky znázorněny v grafech 15-20, byl zjištěn významný rozdíl v obsahu THC mezi jednotlivými pěstebními cykly v rámci jedné odrůdy.

**Graf č. 15:** Obsah THC v odrůdě Nurse Jackie v jednotlivých pěstebních cyklech



\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

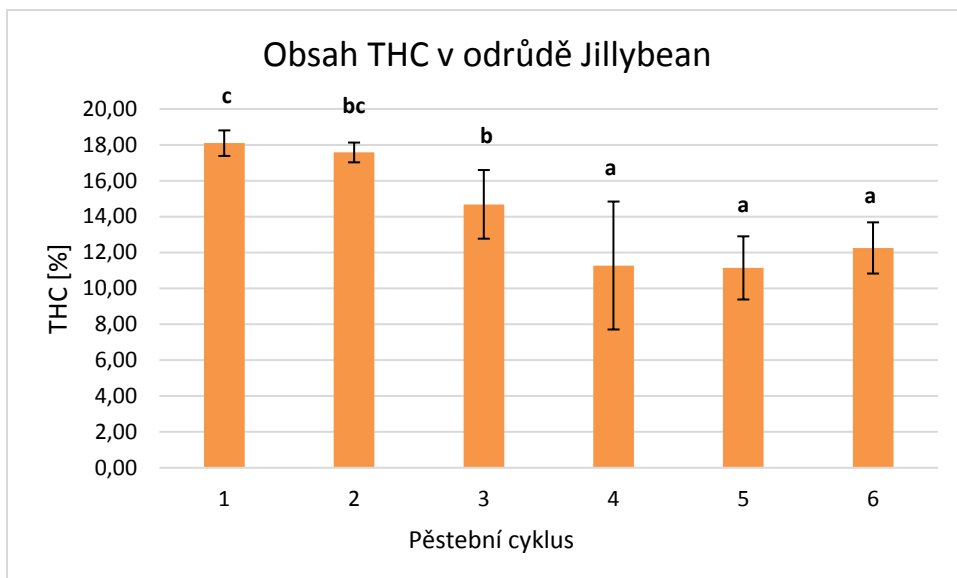
**Graf č. 16:** Obsah THC v odrůdě Conspiracy Kush v jednotlivých pěstebních cyklech



\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

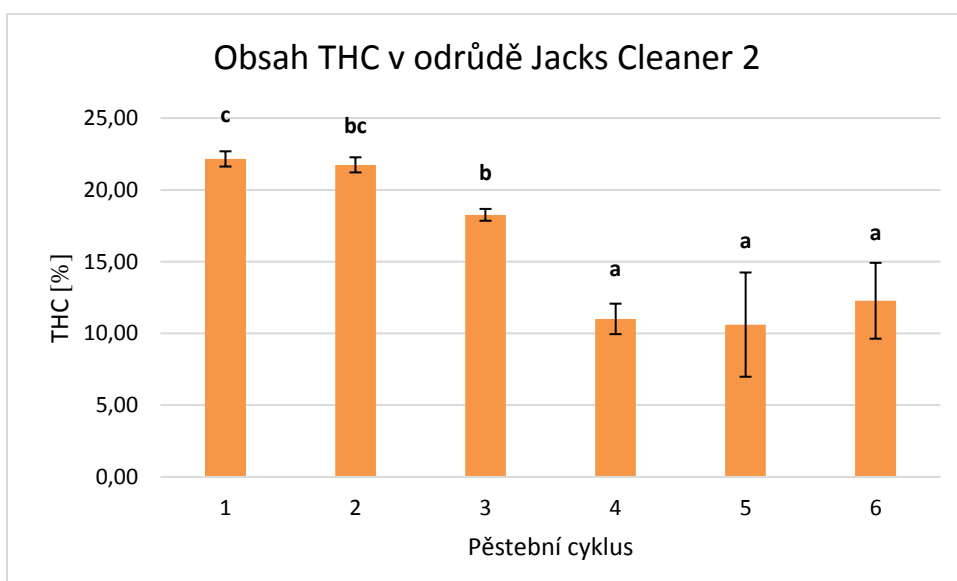
**Graf č. 17:** Obsah THC v odrůdě Jillybean v jednotlivých pěstebních cyklech





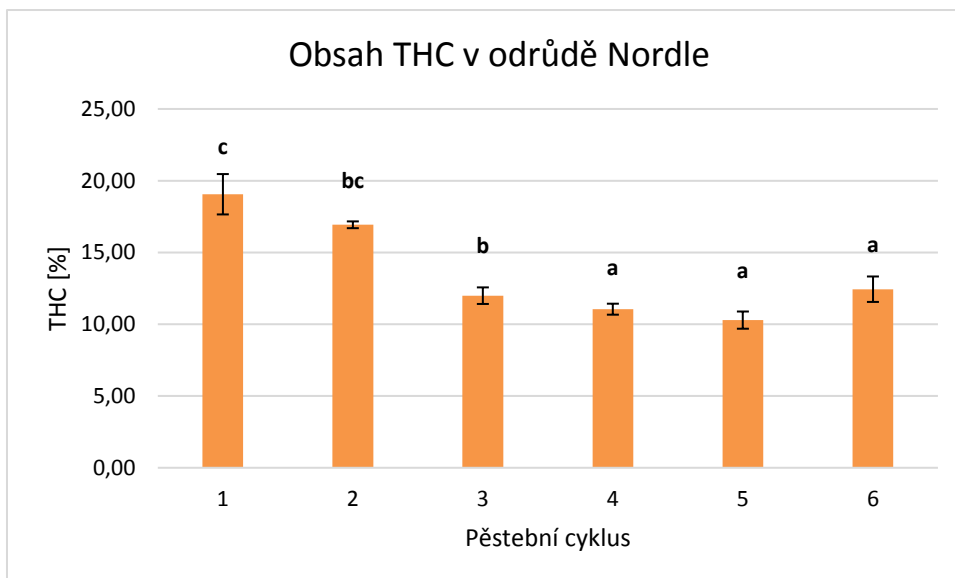
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 18:** Obsah THC v odrůdě Jacks Cleaner 2 v jednotlivých pěstebních cyklech



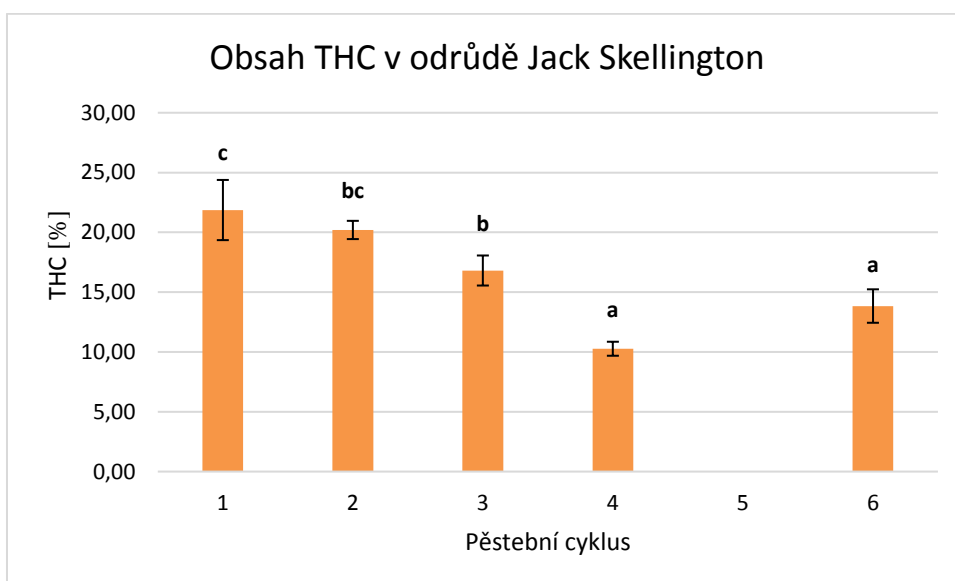
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 19:** Obsah THC v odrůdě Nordle v jednotlivých pěstebních cyklech



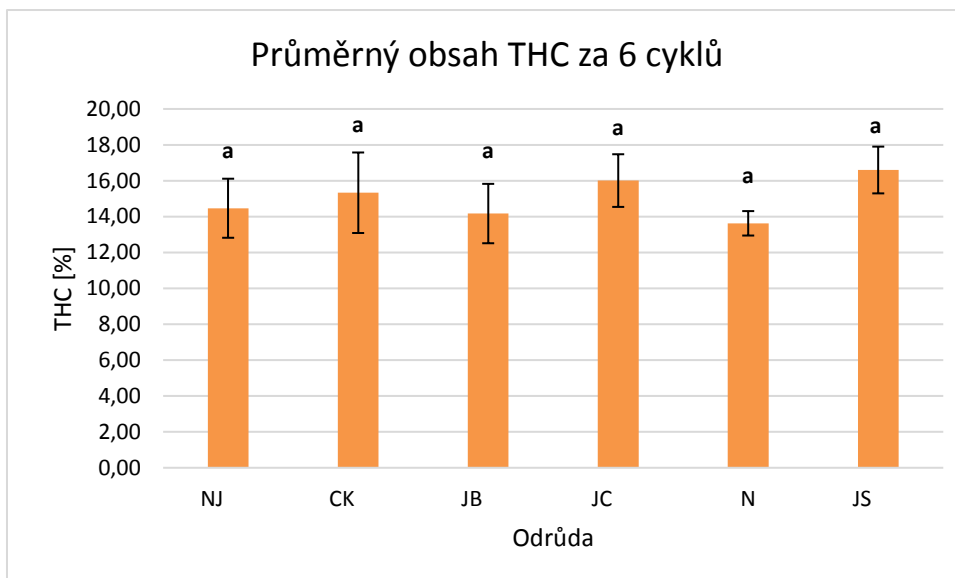
\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 20:** Obsah THC v odrůdě Jack Skellington v jednotlivých pěstebních cyklech



\***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 21:** Průměrný obsah THC v jednotlivých odrůdách za 6 pěstebních cyklech



**\*Stejná písmena** (a) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku. **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jacks Cleaner 2, N – Nordle, JS - Jack Skellington.

Z grafu č. 21 vyplývá, že nejvyšší průměrný obsah THC byl naměřen u odrůdy Jack Skellington ( $16,60 \pm 1,3$  %) a u odrůdy Jacks Cleaner 2 ( $16,01 \pm 1,47$  %). Naopak nejnižší hodnotu THC vykazuje odrůda Nordle ( $13,63 \pm 0,68$  %) a odrůda Jillybean ( $14,17 \pm 1,65$  %). Odrůdy se od sebe statisticky významně neliší.

Grafy č. 15-20 ukazují obsah THC v jednotlivých cyklech v každé jednotlivé odrůdě. V grafu č.20 můžeme vidět, že chybí pátý cyklus odrůdy Jack Skellington, která byla vyřazena z důvodu opylení. Obsah THC v prvních třech cyklech se jevil jako stabilní, nicméně ve čtvrtém cyklu prudce klesl až na hodnoty 10,17 %. Nejvyšší obsah THC byl naměřen v prvním cyklu u odrůdy Jack Cleaner 2 ( $22,15 \pm 0,53$  %), naopak nejmenší obsah byl analyzován u odrůdy Nurse Jackie ( $10,17 \pm 1,43$  %). I přes výrazný pokles hodnot ve čtvrtém cyklu, se jako nejstabilnější odrůda z hlediska obsahu THC jeví Conspiracy Kush a Jack Skellington.

## 6 Diskuze

Cílem této práce bylo zjistit množství dvou hlavních kanabinoidních látek, kterými jsou THC a CBD, u šesti kultivarů konopí (Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Nordle a Jack Skellington) a určit odrůdu stabilní jak z hlediska výnosu, tak z hlediska

obsažených látek vhodnou pro léčbu pacientů. Lužný a Povolná (2013) uvádějí, že obsah účinných látek v rostlinách je určován složením půdy, množstvím dodaných živin, světlem, teplotou, vlhkostí vzduchu a v neposlední řadě mají vliv choroby a škůdci, jenž množství svými škodlivými vlivy snižují.

Z výsledků vyplývá, že za šest pěstebních cyklů v obsahu THC a CBD nejsou mezi jednotlivými kultivary statisticky průkazné rozdíly. Obsah THC se pohyboval ve velkém rozmezí a to 10,17 – 22,15 % a obsah CBD 0,329 – 0,641 %. Brenneisen (2007) uvádí, že největší vliv na obsah nejen THC a CBD, ale všech účinných látek má genetická predispozice pěstovaných rostlin. Z hlediska výnosu a obsahu účinných látek se jako nejvhodnější odrůda jeví odrůda Jacks Cleaner 2 a Jack Skellington.

TGA Subcool Seeds ([www.tgaseeds.com](http://www.tgaseeds.com)) uvádějí obsah THC a CBD u 3 odrůd pěstovaných na fakultě rostlinné výroby v rámci výzkumu na ČZU. U odrůdy Nurse Jackie je uvedeno THC 23,6 % a CBD 0,1 %. Naše výsledky uvádějí obsah THC 14,47 % a obsah CBD 0,473 %. Další odrůda, u které uvádějí obsah účinných látek je Conspiracy Kush. Obsah THC by měl dosáhnout 22,5 % a CBD 0,1 %. Naše výsledky ukazují THC 15,33 % a CBD 0,420 %. Poslední odrůdou je Jillybean s obsahem 21,9 % THC a 1 % CBD. U této odrůdy bylo změřeno 14,17 % THC a 0,389 % CBD. Je tedy zřejmé, že jsme u těchto tří odrůd nedosáhli plného potenciálu. TGA Subcool Seeds však neuvádějí, v jakých pěstebních podmínkách byly rostliny pěstovány. Latta a Eaton (1975) uvádějí, že hořčík (Mg) a železo (Fe) jsou důležité pro syntézu THC, tudíž množství a poměr dodaných živin mohou ovlivnit obsah biologicky aktivních látek v rostlinách. Cílem práce nebylo hodnotit vliv hnojení na obsah THC a CBD. Je však možné, že kdyby došlo k úpravě dávek v poměru živin, obsah THC by se mohl zvýšit na udávané hodnoty TGA Subcool Seeds.

Výrazný propad obsahu THC po třetím pěstebním cyklu je nejspíše zapříčiněn způsobem rozmnožování. Z každé rostliny se vzal „řízek“ ve vegetační fázi růstu rostliny, těsně před změnou světelného režimu na 12/12. Takto se proces pokaždé opakuje a dochází k degradaci genetického materiálu. Cervantes (1983) uvádí, že klony rostlin, které jsou vzaty již z klonů mají nižší potenciál na obsah biologicky účinných látek oproti rostlinám F1 vzešlé ze semene přibližně o 25 %. Vegetativně množené rostliny mají také vyšší náchylnost k nemoci.

Adams (2012) uvádí, že rostlina reaguje na několik faktorů, jako je například teplota a vlhkost, ale nejdůležitějším faktorem pro změnu z růstu do kvetení je světlo. Konopí potřebuje pro období vegetačního růstu 18 hodin světla a 6 hodin tmy. Ideální fotoperiodou

pro tvorbu květu je 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Tímto způsobem byly pěstovány všechny námi analyzované odrůdy.

## 7 Závěr

Na základě naměřených výsledků můžeme tvrdit, že mezi šesti vybranými odrůdami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v obsahu kanabinoidů. Z těchto šesti genotypů všechny odpovídají vyhlášce 236/2015 Sb., vhodný pro léčebné použití v ČR. Vyhodnocení obsahu kanabinoidů vybraných genotypů konopí Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington a Nordle bylo uskutečněno na základě metodiky, která je shodná s verifikovanou metodou UNODC. Na základě naměřených výsledků je zřejmé, že všech šest odrůd je vhodných k léčebnému využití z hlediska obsahu THC a CBD. Nejvyšší obsah THC byl naměřen u odrůdy Jack Skellington ( $16,60 \pm 1,3$  %), naopak nejmenší u odrůdy Nordle ( $13,63 \pm 0,68$  %). Průměrný obsah CBD byl u všech šesti kultivarů nižší než 1% a celkově nejvyšší obsah CBD byl zaznamenán u odrůdy Nurse Jackie ( $0,473 \pm 0,08$  %). Z hlediska výnosu a obsahu účinných látek se jako nejvhodnější jeví odrůdy Jacks Cleaner 2 a Jack Skellington.

## 8 Seznam zkratk

**AEA** N-arachidonylethanolamin, anandamid

**ANOVA** Analýza rozptylu

**2-AG** 2-arachidonoylglycerol

**CB** Kanabinoidní receptor

**CBC** Kanabichromen

**CBD** Kanabidiol

**CBDA** Kyselina kanabidiolová

**CBG** Kanabigerol

**CBGA** Kyselina kanabigerolová

**CBN** Kanabinol

**ČR** Česká republika

**ES** Endokanabinoidní systém

**EU** Evropská unie

**GC – FID** Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem

**Mz ČR** Ministerstvo zdravotnictví České Republiky

**OSN** Organizace spojených národů

**SAKL** Státní agentura pro konopí pro léčebné použití

**SÚKL** Státní ústav pro kontrolu léčiv

**TBA** Tribenzylamine

**THC** Tetrahydrokanabinol

**THCA** Kyselina tetrahydrokanabinolová

**THCV** Tetrahydrokanabivarin

**UNODC** Úřad OSN pro drogy a kriminalitu

**11-OH-THC** 11-hydroxy-tetrahydrokanabinol

## 9 Seznam použité literatury:

Abel, E. L. 1980. Marihuana: The First Twelve Thousand Years. Springer. New York. p. 289.  
ISBN: 978-0306404962

Adams, P. 2012. Weedology – Marihuana, vše o pěstování konopí. Positive Publishers b.v.b.a. Nizozemsko. 351 s. ISBN: 978-90-76583-35-8.

Booth, M. 2004. Konopí – dějiny. BB/art s.r.o. Praha. 368 s. ISBN: 80-7341-348-5.

Boucher, F., Cosson, L., Paris, M. R., Unger, J. 1974. *Cannabis sativa* L.: races chimiques ou varietes. Plantes medicinales et phytotherapie. 8. 20-31.

Brenneisen, R. 2007. Chemistry and analysis of phytocannabinoids and other cannabis constituents. In: ElSohly, A. M. (ed.). Marijuana and the cannabinoids. Humana press. Totowa. p. 17-49. ISBN: 978-1-58829-456-2.

Turner, E. C., Boeren, G. E., ElSohly, M. A. 1980. Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. Journal of natural products. 43 (2). 169-234.

Cervantes, J. 2006. Marijuana Horticulture: The indoor/outdoor medical grower's bible. Van Patten Publishing. Vencouver. p. 512. ISBN: 978-1-878-82323-6.

Česko. Vyhláška č. 236 ze dne 17. září 2015 o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. In: Sběrka zákonů české republiky. 2015. částka 98. s. 2978 – 2992. ISSN: 1211–1244. Dostupné také z [http://www.mzcr.cz/legislativa/dokumenty/vyhlaska-c236/2015-sb-o-stanoveni-podminek-pro-predepisovanipripravudist\\_10798\\_2439\\_11.html](http://www.mzcr.cz/legislativa/dokumenty/vyhlaska-c236/2015-sb-o-stanoveni-podminek-pro-predepisovanipripravudist_10798_2439_11.html) >

Clark, C. C. 1993. Marijuana Botany: An Advanced Study: The Propagation and Breeding of Distinctive Cannabis. 2nd ed. Ronin Publishing. Oakland. p. 197. ISBN:978-0-914171-78-2.

Conrad, Ch. 2001. Konopí pro zdraví: Fakta o léčivých účincích marihuany. Pragma. Praha. 210 s. ISBN: 80-7205-834-7.

Debnár, A. V. 2005. Konopí a marihuana – Spojené státy americké a cannabis v první třetině 20. století. Volvox Globator. Praha. 144 s. ISBN: 80-7207-584-5.

Dupal, L. 1994. Kniha o marihuaně: Kompilace. Mat'a. Praha. 121 s. ISBN: 80-901590-5-2.

Dussy, E. F., Hamberg, C., Luginbühl, M., Schwerzmann, T., Briellmann, A. T. 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 (1). 3-10.

ElSohly, M. A. 2007. Marijuana and the cannabinoids. Humana Press. Totowa. p. 322. ISBN: 1-58829-456-0.

ElSohly, M. A., Arafat, R., Banahan, B. F., Mehmedic, Z., Ross, S. A., Yi, B. 2000. Potency trends of delta9-THC and other cannabinoids in confiscated marijuana from 1980-1997. *Journal of forensic science*. 45 (1). 24-30.

Fellermeier, M., Zenk, M. H. 1998. Prenylation of olivetolate by hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Letters*. 427 (2). 283-285.

Fišar, Z. 2006. Fytkanabinoidy. *Chemické listy*. 100. 233-242.

Fišar, Z. 2008. Kanabinoidy a duševní poruchy. *Česká a slovenská psychiatrie*. 104 (6). 297-307.

Fišar, Z. 2009. Phytocannabinoids and Endocannabinoids. *Current Drug Abuse Reviews*. 2 (1). 51-75.

Gabrielová, H. 2008. Konopí – biomasa pro život. Konopa. Chvaleč. 28 s. ISBN: 978-80-254-1149-0.

Gaoni, Y., Mechoulam, R. 1964. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal of the American Chemical Society*. 86 (8). 1646-1647.

Hampson, A. J., Axelrod, J., Grimaldi, M., Wink, D. 1998. Cannabidiol and (-)-Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 95 (14). 8268-73.



Hanuš, L. O. 2009. Pharmacological and therapeutic secrets of plant and brain (endo)cannabinoids. Medicinal research reviews. 29 (2). 213-271.

Hanuš, L. O. 2012. Endogenní kanabinoidy, receptory, fyziologické role. Revue české lékařské akademie. 8. 8-12.

Hazekamp, A. 2007. *Cannabis*: extracting the medicine. Ipskam B.V. Amsterdam. p. 181. ISBN: 978-90-9021997-4.

Hazekamp, A., Fishedick, J. T. 2012. Cannabis - from cultivar to chemovar. Drug Testing and Analysis. 4 (7-8). 660-7.

Hillig, W. K., Mahlberg, G. P. 2004. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in *cannabis* (*Cannabaceae*). American journal of botany. 91 (6). 966-975.

Iuvone, T., Esposito, G., Esposito, R., DiRosa, M., Izzo, A. A., Santamaria, R. 2004. Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from *Cannabis sativa*, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells. Journal of neurochemistry. 89 (1). 134-141.

Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., DiMarzo, V., Mechoulam, R. 2009. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutical opportunities from an ancient herb. Trends in pharmacological science. 30 (10). 515-527.

Kvasnička, T. 2008. Význam endokanabinoidního systému v regulaci energetické rovnováhy. Vnitřní lékařství. 54 (2). 191-194.

Knight, G., Hansen, S., Connor, M., Poulsen, H., McGovern, C., Stacey, J. 2010. The results of an experimental indoor hydroponic *Cannabis* growing study, using the 'Screen of Green' (ScrOG) method. Yield, tetrahydrocannabinol (THC) and DNA analysis. Forensic Science International. 202 (1-3). 36-44.

Latta, R. P., Eaton, B. J. 1975. Seasonal fluctuations in cannabinoid content of Kansas Marijuana. Economic Botany. 29 (2). 153-163.

Lužný, J., Povolná J. 2013. Teoretické předpoklady pro léčbu kanabinoidy u neurodegenerativních chorob. Česká a slovenská psychiatrie. 109 (5). 232-238.

Malfait, A. M., Andreakos, E., Feldmann, M., Gallily, R., Malik, A. S., Mechoulam, R., Sumariwalla, P. F. 2000. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral

anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America. 97 (17). 9561-9566.

Mathre, L. M. 1997. Cannabis in Medical Practice: A Legal, Historical and Pharmacological Overview of the Therapeutic Use of Marijuana. McFarland & Company, Inc. Jefferson. p. 247. ISBN: 0-7864-0361-6.

de Meijer, E. P., Bagatta, M., Carboni, A., Crucitti, P., Mandolino, G., Moliterni, V. M., Ranalli, P. 2003. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. Genetics. 163 (1). 335-346.

Mechoulam, R., Shvo, Y. 1963. Hashis I the structure of cannabidiol. Tetrahedron. 19 (12). 2073-2078.

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.

Miovský, M., Blaha, T., Dědičová, M., Dvořáček, J. Gabrhelík, R., Gabrielová, H., Gajdošíková, H., Hanuš, L. O., Horáček, J., Krmenčík, P., Kubů, P., Miovska, L., Ouštěcká-Neradová, A. B., Nerad, J. M., Radimecký, J., Ruman, M., Sivek, V., Šejvl, J., Šulcová, A., Vacek, J., Vopravil, J., Vorel, F., Záborský, T. 2008. Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium. Grada. Praha. 533 s. ISBN: 978-802-4708-652.

Moliterini, V. M. C., Cattivelli, L., Mondolino, G., Ranalli, P. 2004. The sexual differentiation of *Cannabis sativa* L.: A morfological and molecular study. Euphytica. 140 (1). 95-106.

Morimoto, S., Shoyama, Y., Taura, F. 1999. Biosynthesis of cannabinoids in *Cannabis sativa* L. Curr Top Phytochem. 2. 103-113.

Nečas, M. 2011. Kanabinoidy – charakteristika, rozdelenie, mechanizmus účinku. Paliatívna medicína a liečba bolesti. 4 (2). 57-60.

Peč, J. 2013. Konopí aneb THC, CBD, CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub> atp. Praktické lékárenství. 9 (3). 131-134.

Raharjo, J. T., Chang, T. W., Choi, H. Y., Peltenburg-Looman, M. G. A., Verpoorte, R. 2003. Olivetol as product of a polyketide synthase in *Cannabis sativa* L. Plant Science. 166 (2004). 381-385.

Razdan, R. K., Handrick, G. R., Puttick A. J., Zitko, B. A. 1972. Hashish. 6: Conversion

of (-)-Delta1(6)-tetrahydrocannabinol to (-)-Delta1(7)-tetrahydrocannabinol - Stability of (-)-Delta1- and (-)-Delta1(6)-tetrahydrocannabinols. *Experientia*, 28 (2). 121-122.

Robinson, R. 2004. Velká kniha o konopí. 3.vyd. Volvox Globator. Praha. 280 s. ISBN: 80-720-7532-2.

Rosenthaler, S., Huber, A., Huu, N. C., Kolmanz, C., Kranner, B., Krewenka, C., Moldzio, R., Pöhn, B., Rausch, W. D. 2014. Differences in receptor binding affinity of several phytocannabinoids do not explain their effects on neural cell cultures. *Neurotoxicology and teratology*. 46. 49-56.

Ruman, M. 2014. Cannabis - konopí: Průvodce světem univerzální rostliny. Malý princ. Praha. 306 s. ISBN 978-80-87754-13-9.

Russo, B. E., Bera, S., Carboni, A., Del Bianco, F., Ferguson, D. K., Hueber, F., Jiang, H. E., Li, C. S., Li, X., Liu, C. J., Lü, E. G., Mandolino, G., Potter, D. J., Sutton, A., Wang, Y. F., Zhang, Y. B., Zhao, L. C., Zhao, Y. X. 2008. Phytochemical and genetic analyses of ancient *Cannabis* from Central Asia. *Journal of experimental botany*. 59 (15). 4171-82.

Russo, B. E., McPartland, M. J. 2003. Cannabis is more than simply D9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology*. 165. 431-432.

Russo, B. E. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British journal of pharmacology*. 163. 1344-1364.

Rustichelli, C., Ferioli, V., Baraldi, M., Zanolì, P., Gamberini, G. 1998. Analysis of cannabinoids in fiber hemp plant varieties (*Cannabis sativa* L.) by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia*. 48 (3). 215-222.

Sallan, S. E., Frei, E., Zinberg, N. E. 1975. Antiemetic effect of delta-9-tetrahydrocannabinol in patients receiving cancer chemotherapy. *The New England journal of medicine*. 293 (16). 795-797.

Sirikantaramas, S., Ishikawa, Y., Morimoto, S., Shoyama, Y., Tanaka, Y., Taura, F. 2005. Tetrahydrocannabinolic Acid synthase, the enzyme controlling marihuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. *Plant cell physiol*. 46 (9). 1578-1582.

Stafford, P. 1997. Encyklopedie psychedelických látek. Volvox Globator. Praha. 496 s. ISBN: 80-7207-057-6.

Šulcová, A. 2012. Současné poznávání významu endokanabinoidního systému u neuropsychiatrických poruch. *Psychiatrie*. 16 (4). 229-235.

Tsou, K., Brown, S., Mackie, K., Sanudo-Pena, M. C., Walker, J. M. 1998. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*. 83 (2). 393-411.

Turner, C. E., Elsohly, M. A. Et Boeren, E. G. 1980. Constituents of Cannabis-Sativa L. XVII. A review of the natural constituents. *Journal of Natural Products*. 43 (2). 169-234.

Tyrlíková, I. 2012. Marihuana a epilepsie, mýty a fakta. *Neurologie pro praxi*. 13 (6). 333-335.

UNODC (United Nations office on drugs and crime). 2009. Recommended methods for the identifications and analysis of cannabis and cannabis products. United Nations. New York. 50 p. ISBN: 978-92-1-148242-3.

Vanhove, W., Meert, N., Van Damme, P. 2011. Factors determining yield and quality of illicit indoor cannabis (*Cannabis spp.*) production. *Forensic Science international*. 212 (1-3). 158-163.

Wohlfarth, A., Mahler, H., Auwärter V. 2011. Rapid isolation procedur efor D9-tetrahydrocannabinolic acid A (THCA) from Cannabis sativa using two flash chromatography systems. *Journal of chromatography*. 879 (28). 3059-3064.

Zima, T. 2012. Biochemické stanovení produktů metabolismu kanabinoidů. *Revue české lékařské akademie*. 8. 8-12.

Zuardi, A. W., Crippa, J. A. S., Guimaraes, F. S., Hallak, J. E. C., Moreira, F. A. 2006. Cannabidiol, a *Cannabis sativa* constituent, as an antipsychotic drug. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 39. 421-429.

### **Internetové zdroje:**

Leafly. The World's Cannabis Information Resources [online]. 7. února 2017. [cit. 2017-02-07]. Dostupné z <<https://www.leafly.com/>>.

Seed Finder [online]. 2017. [cit. 2017-02-07]. Dostupné z <<http://en.seedfinder.eu/>>.

TGA Subcool seeds. The art of cannabis [online]. 7. února 2017. [cit. 2017-02-07]. Dostupné z <<http://www.tgagenetics.com/>>.

Advanced Hydroponics of Holland. [online]. Oosteinderweg. WordPress. 18. února 2017. [cit. 2017-02-21]. Dostupné z <<http://www.advancedhydroponics.nl/>>.

## **10 Seznam příloh**

Příloha č. 1: Vyhláška č. 236/2015 Sb. ....

**236****VYHLÁŠKA**

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**

Ministerstvo zdravotnictví a Ministerstvo zemědělství, po projednání s Ministerstvem obrany, Ministerstvem vnitra, Ministerstvem spravedlnosti a Ministerstvem financí stanoví podle § 114 zákona č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění zákona č. 50/2013 Sb. a zákona č. 70/2013 Sb., k provedení § 77 odst. 1 písm. g), § 79 odst. 2, § 79 odst. 8 písm. a), § 79a odst. 1 a § 80 zákona o léčivech:

**§ 1****Předmět úpravy**

Tato vyhláška upravuje pravidla správné distribuční praxe konopí pro léčebné použití a podmínky předepsání, přípravy, výdeje a použití individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití.

**§ 2****Druhy konopí pro léčebné použití a stanovení množstevního omezení**

(1) Pro předepsání, přípravu, výdej a použití individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití lze použít pouze druhy konopí pro léčebné použití stanovené v příloze č. 1 k této vyhlášce, a to v souhrnném množství nejvýše 180 g usušené rostlinné drogy měsíčně.

(2) Pro přípravu individuálně připravovaného léčivého přípravku lze použít pouze konopí pro léčebné použití podle odstavce 1, které splňuje kritéria stanovená v příloze č. 2 k této vyhlášce.

(3) Jakost konopí pro léčebné použití pro přípravu léčivých přípravků musí být doložena před-

ložení dokladu o ověření jakosti léčivé látky vydaného v Evropské unii

- a) výrobcem léčivých přípravků, který je oprávněn ke kontrole léčivých látek,
- b) výrobcem léčivých látek, který je držitelem platného certifikátu správné výrobní praxe při výrobě léčivých látek, nebo
- c) laboratoří, která splňuje požadavky správné výrobní praxe stanovené Evropskou komisí a Evropskou lékovou agenturou a splnění požadavků správné výrobní praxe doloží platným certifikátem správné výrobní praxe nebo protokolem o kontrole vydaným inspektory příslušného orgánu daného členského státu; takový protokol o kontrole nesmí být starší 3 let.

**§ 3****Značení konopí pro léčebné použití**

Konopí pro léčebné použití určené pro přípravu individuálně připravovaného léčivého přípravku musí být na obalu označeno podle charakteristik uvedených v příloze č. 1 k této vyhlášce. Pro označení individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 se použije vyhláška o správné lékárenské praxi<sup>1)</sup>.

**§ 4****Předepisování individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití**

(1) Individuálně připravovaný léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 může při poskytování zdravotních služeb předepisovat v indikacích uvedených v příloze č. 3 k této vy-

<sup>1)</sup> Vyhláška č. 84/2008 Sb., o správné lékárenské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivy v lékárnách, zdravotnických zařízeních a u dalších provozovatelů a zařízení vydávajících léčivé přípravky, ve znění vyhlášky č. 254/2013 Sb.

hláše pouze lékař se specializovanou způsobilostí stanovenou v této příloze, a to pouze pacientům, kteří dosáhli 18 let věku.

(2) Předepisující lékař je povinen uvést na receptu obecné náležitosti stanovené vyhláškou o způsobu předepisování léčivých přípravků<sup>2)</sup>, dávkování individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 a cestu podání. Dále je lékař povinen na receptu uvést

- a) druh konopí pro léčebné použití,
- b) procentuální obsah delta-9-tetrahydrocannabinolu a
- c) procentuální obsah cannabidiolu.

(3) Připravovaný léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 lze předepsat na jeden recept nejvýše v množství odpovídajícím dávce pro zajištění jednoměsíční léčby pro danou indikaci.

#### § 5

##### **Výdej individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití**

Individuálně připravovaný léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné použití může být vy-

dán jen v případě, že je předepsán na platný elektronický recept, který obsahuje náležitosti podle § 4 odst. 2.

#### § 6

##### **Závěrečné ustanovení**

Tato vyhláška byla oznámena v souladu se směrnicí Evropského parlamentu a Rady 98/34/ES ze dne 22. června 1998 o postupu při poskytování informací v oblasti norem a technických předpisů a předpisů pro služby informační společnosti, v platném znění.

#### § 7

##### **Zrušovací ustanovení**

Vyhláška č. 221/2013 Sb., kterou se stanovují podmínky pro předepisování, přípravu, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití, se zrušuje.

#### § 8

##### **Účinnost**

Tato vyhláška nabývá účinnosti třicátým dnem ode dne jejího vyhlášení.

Ministr zdravotnictví:

MUDr. Němeček v. r.

Ministr zemědělství:

Ing. Jurečka v. r.

<sup>2)</sup> Vyhláška č. 54/2008 Sb., o způsobu předepisování léčivých přípravků, údajích uváděných na lékařském předpisu a o pravidlech používání lékařských předpisů, ve znění pozdějších předpisů.



Příloha č. 1 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.

**Druhy konopí pro léčebné použití**

<b>Povinně uváděný údaj</b>	<b>Charakteristika / přípustné hodnoty</b>
Druh konopí	Cannabis indica L. <i>nebo</i> Cannabis sativa L.
Obsah $\Delta$ -9-THC (delta-9-tetrahydrocannabinol)	Vyjádřený obsah v procentech v rozmezí 0,3 % - 21,0 %. Faktický obsah $\Delta$ -9-THC v konopí pro léčebné použití se nesmí odchýlit o více než $\pm 20$ % pěstitelem uváděné hodnoty.
Obsah CBD (cannabidiol)	Vyjádřený obsah v procentech v rozmezí 0,1 % - 19,0 %. Faktický obsah CBD v konopí pro léčebné použití se nesmí odchýlit o více než $\pm 20$ % pěstitelem uváděné hodnoty.

Příloha č. 2 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.

**Kritéria pro konopí pro léčebné použití**

Parametr	Metoda	Limit
<i>Totožnost</i>		
Makroskopický popis	Vizuální	Celá nebo nařezaná usušená vrcholičnatá květenství tmavě zelené, šedozelené až hnědozelené barvy složená do hustých klasů. Drobné květy jsou obaleny listeny, porostlými z horní strany žláznatými chlupy.
TLC <sup>a)</sup>	ČL <sup>b)</sup> 2.2.27	vizuální hodnocení
<i>Zkoušky na čistotu</i>		
Cizí příměsi	ČL 2.8.2	max. 2 %
Ztráta sušením	ČL 2.2.32	max. 10,0 %
Zbytky pesticidů	ČL 2.8.13	Odpovídající limitům uvedeným v ČL 2.8.13
Těžké kovy	ČL 2.4.27	Pb – max. 5,0 µg/g Cd – max. 1,0 µg/g Hg – max. 0,1 µg/g
Aflatoxiny - Aflatoxin B <sub>1</sub> - Celkový obsah aflatoxinů B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> a G <sub>2</sub>	ČL 2.8.18	max. 2 µg/kg  max. 4 µg/kg
Mikrobiologická jakost ČL 5.1.4	ČL 2.6.12 a 2.6.13	max. 10 <sup>3</sup> CFU <sup>c)</sup> /g

- TAMC <sup>c)</sup> - TYMC <sup>d)</sup>		max. 10 <sup>2</sup> CFU/g
Rozkladné produkty - cannabinol	HPLC <sup>f)</sup> – ČL 2.2.29	max. 1 %
Obsah		
- THC (DELTA-9-tetrahydrocannabinol) - CBD (cannabidiol)	HPLC – ČL 2.2.29	± 20 % deklarovaného obsahu THC nebo CBD

**Vysvětlivky:**

- a) Tenkovrstvá chromatografie.
- b) Český lékopis.
- c) Celkový počet aerobních mikroorganismů.
- d) Celkový počet kvasinek/plisní.
- e) Kolonie tvořící jednotka/y
- f) Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.

**Indikace a specializovaná způsobilost předepisujícího lékaře**

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

---

povrchová léčba dermatóz a slizničních lézí	dermatovenerologie infekční lékařství geriatrie
---	---