

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE



**FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A
PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ**

KATEDRA KVALITY A BEZPEČNOSTI POTRAVIN

**Název disertační práce: Pěstování a uplatnění léčebného
konopí (*Cannabis sativa* L.)**

Autor: Ing. Anežka Janatová

Školitel: doc. Ing. Pavel Klouček, Ph.D.

Konzultant specialista: Ing. Adéla Fraňková, Ph.D.

2019

Čestné prohlášení

Na mou čest prohlašuji, že jsem závěrečnou práci na téma Pěstování a uplatnění léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.), vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne:

Podpis autora práce:

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem, kteří se podíleli na vzniku a průběhu výzkumu léčebného konopí na České zemědělské univerzitě v Praze. Panu prof. Jiřímu Balíkovi, že v roce 2014 umožnil z pozice Rektora výzkum léčebného konopí na ČZU v Praze. Panu prof. Pavlu Tlustošovi za jeho odvalu stát se odpovědnou osobou a zaštitit tak pěstování a výzkum léčebného konopí. Panu prof. Josefu Pulkrábekovi za umožnění výzkumu léčebného konopí na Katedře rostlinné výroby a panu prof. Karlu Hamouzovi.

Největší a vřelá díky patří panu doc. Pavlu Kloučkovi za jeho vedení, svatou trpělivost, dobrotu, ochotu, cenné rady a originální nápady v oblasti výzkumu léčebného konopí. Již pátým rokem je mi obrovskou ctí pracovat na výzkumu pod jeho vedením a vážím si ho nejen jako kvalitního vědce a vedoucího, ale především jako člověka. Dále bych ráda poděkovala paní Dr. Adéle Fraňkové, která mě zasvětila do tajů laboratoře, naučila pracovat s laboratorním vybavením a vždy a se vším mi ochotně poradila a pomohla. Děkuji moc panu Dr. Ivo Doskočilovi a Katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky FAPPZ, za spolupráci a doplnění výsledků v této studii. Velké poděkování patří také všem členům Katedry rostlinné výroby a Katedry kvality zemědělských produktů FAPPZ, všem přátelům a známým, kteří se, byť jen radou na výzkumu léčebného konopí podíleli a svému příteli a rodině, kteří mě ve studiu konopí po celý čas podporovali.

Souhrn

Téměř po sto letech stojíme u světové renesance léčby konopím. Používání konopí s vyšším obsahem delta-9-tetrahydrokanabinolu, než je 0,3 %, bylo ve většině států světa dlouhou dobu kriminalizováno. V posledních letech se tato situace začala rapidně měnit a v mnoha státech bylo legalizováno konopí pro léčebné použití a v některých dokonce i konopí pro užívání rekreační.

Česká zemědělská univerzita v Praze byla první institucí v České Republice, které bylo Ministerstvem zdravotnictví ČR povoleno v rámci výzkumu pěstování konopí s vyšším obsahem delta-9-tetrahydrokanabinolu, než je 0,3 %, také nazývané: „Léčebné konopí“.

V kultivační místnosti bylo po šest pěstebních cyklů v řízených podmínkách kultivováno sedm různých genotypů: Conspiracy Kush, Jilly Bean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington, Nordle, Nurse Jackie a National Health Service, u nichž byly sledovány výnosy a stabilita obsahu delta-9-tetrahydrokanabinolu a kanabidiolu. Sušené květenství rostlin bylo použito zejména pro výrobu ethanolových extraktů, u nichž byla sledována výtěžnost, obsah hlavních kanabinoidů a relativní obsah látek terpenické povahy. Extrakty byly dále použity pro *in vitro* studie cytotoxicity na buněčných liniích kolorektálního adenokarcinomu a hepatokarcinomu.

Průměrný výnos sušeného květenství byl $21,02 \pm 3,33$ g/rostlinu a mezi jednotlivými genotypy nebyly ve výnosech zjištěny průkazné rozdíly. Průměrný obsah delta-9-tetrahydrokanabinolu se pohyboval v rozmezí od $15,9 \pm 2,04$ % do $20,77 \pm 1,62$ % a průměrný obsah kanabidiolu v rozmezí od $0,45 \pm 0,06$ % do $0,6 \pm 0,06$ %. U všech vybraných genotypů byl obsah hlavních kanabinoidů po šest pěstebních cyklů kromě třetího relativně stabilní. Genotypy Conspiracy Kush, Jilly Bean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington a Nurse Jackie odpovídají obsahem hlavních kanabinoidů požadavkům české legislativy i aktuálním požadavkům Státního ústavu pro kontrolu léčiv.

Průměrná výtěžnost ethanolových extraktů byla $20,77 \pm 6,06$ % a mezi jednotlivými genotypy nebyly ve výnosech zjištěny průkazné rozdíly. Průměrný obsah delta-9-tetrahydrokanabinolu v extraktech byl $59,1 \pm 2,43$ % a kanabidiolu $1,84 \pm 0,17$ %. Statisticky prokazatelně byl nejvyšší obsah obou kanabinoidů naměřen v extraktu z genotypu Nurse Jackie. V extraktech vybraných genotypů bylo dále identifikováno více než 60 různých látek terpenické povahy, což by mohlo pomoci k objasnění vzájemné synergie některých látek při následném testování biologické aktivity konopných extraktů. Majoritní monoterpeny a seskviterpenoidy které byly detekovány u většiny genotypů, jsou: limonen, linalol, fenchol,

cis-pinokarveol, α -terpineol, β -karyofylen, *trans*- α -bergamoten, α -humulen, γ -kurkumen, selina-3,7(11)-dien, karyofylen oxid, guaiol, γ -eudesmol, β -eudesmol, α -bisabolol a další.

Extrakty všech genotypů vykazovaly nejvyšší pozitivně selektivní cytotoxicitu proti buňkám kolorektálního karcinomu Ht-29 (SI = $0,49 \pm 0,12$). Minimální inhibiční koncentrace (IC₅₀) extraktů pro Ht-29 se pohybovaly v rozmezí od $8,48 \pm 2,4$ % do $25,7 \pm 2,39$ %, kdy extrakt z genotypu Jilly Bean se jevil jako nejméně cytotoxický. Pro IC₅₀ Ht-29 i porovnávaných zdravých buněk FHs 74 Int, bylo zapotřebí 2× vyšší koncentrace extraktu než ostatních. U buněčných linií kolorektálního karcinomu Caco-2 působily selektivně cytotoxicky extrakty z genotypů Jilly Bean (SI 0,44) a Nordle (SI 0,59) a u linií hepatokarcinomu Hep-G2 jednoznačně selektivně na tyto buňky působil extrakt z genotypu Jilly Bean (SI 0,62). Pouze u těchto dvou genotypů byl detekován β -selinen, kterého měl genotyp Jilly Bean mnohonásobně vyšší obsah než Nordle. Lze se domnívat, že přítomnost tohoto seskviterpenu by mohla mít vliv na výslednou pozitivně selektivní cytotoxicitu u rakovinných buněk tlustého střeva Caco-2 a rakovinných buněk jater Hep-G2.

V poslední době je ve výzkumu léčebného konopí věnována velká pozornost konopným extraktům a takzvanému „Entourage Effect,“ neboli léčebným účinkům komplexního spektra účinných látek. Z mnoha studií je známo, že některé látky mohou zvyšovat ale také snižovat nebo zcela blokovat biologickou aktivitu dalších účinných látek v rostlině, či v jejím výtažku.

Vzhledem k tomu, že v konopí bylo identifikováno více než 1200 různých látek, na světě je vyšetřeno více než 700 různých chemovarů, nemluvě o počtu diagnóz či jejich odlišných stádií a individuálnímu metabolismu každého pacienta, čeká výzkum léčby konopím ještě dlouhá cesta. Tato studie přispěla k rozšíření seznamu popsaných genotypů konopí vhodných pro léčebné použití, které mají stabilní obsah kanabinoidů a u některých z genotypů byly potvrzeny cytotoxické účinky na buněčných liniích vybraných lidských karcinomů.

Klíčová slova: léčebné konopí, pěstební cyklus, delta-9-tetrahydrokanabinol, kanabidiol, terpenické látky, plynová chromatografie, ethanolový extrakt, cytotoxicita

Abstract

After almost one hundred years of cannabis prohibition, we now observe the worldwide renaissance of the use of cannabis for medical purposes. The use of cannabis with a delta-9-tetrahydrocannabinol content higher than 0.3 % has been criminalized for a long time in most countries in the world. Over the past few years, the situation has changed rapidly, cannabis has been legalized for medical use in many countries and in some countries even for recreational use.

Czech University of Life Sciences Prague was the first institution in the Czech Republic approved by the Ministry of Health of the Czech Republic in the research of cultivation of cannabis with delta-9-tetrahydrocannabinol content higher than 0.3 %, so-called „Medical Cannabis”.

Seven different genotypes (Conspiracy Kush, Jilly Bean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington, Nordle, Nurse Jackie, and National Helath Service) were cultivated in the grow-room under controlled conditions for six growing cycles, which were monitored for yield and stability of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol content. Dried inflorescences of plants were used mainly for production of ethanol extracts, which were monitored for yield, content of main cannabinoids and relative content of terpenoids. The extracts were further used for *in vitro* cytotoxicity studies on colorectal adenocarcinoma and hepatocarcinoma cell lines.

The average yield of dried inflorescence was 21.02 ± 3.33 g/plant and there were no significant differences between genotypes. The average delta-9-tetrahydrocannabinol content ranged from 15.9 ± 2.04 % to 20.77 ± 1.62 % and the average cannabidiol content ranged from 0.45 ± 0.06 % to 0.6 ± 0.06 %. In all selected genotypes, the content of major cannabinoids was relatively stable for six growing cycles except the third. The genotypes Conspiracy Kush, Jilly Bean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington and Nurse Jackie match the content of the main cannabinoids to the requirements of Czech legislation and the current requirements of National Office for Drug Control.

The average yield of ethanolic extracts was 20.77 ± 6.06 % and there were no significant differences between genotypes. The average content of delta-9-tetrahydrocannabinol in extracts was 59.1 ± 2.43 % and cannabidiol 1.84 ± 0.17 %. Statistically, the highest content of main cannabinoids was measured in the Nurse Jackie genotype extract. More than 60 different terpenoids were identified in extracts of selected genotypes, which could help to clarify the synergy of some substances in subsequent testing of the biological activity of cannabis extracts. The major monoterpenes and sesquiterpenes detected in most genotypes are: limonene, linalool,

fenchol, *cis*-pinocarveol, α -terpineol, β -caryophyllene, *trans*- α -bergamotene, α -humulene, γ -curcumene, selina-3,7(11)-diene, caryophyllene oxide, guaiol, γ -eudesmol, β -eudesmol, α -bisabolol and others.

Extracts of all genotypes showed the highest positive selective cytotoxicity against Ht-29 colorectal cancer cells (SI = 0.49 ± 0.12). The minimum inhibitory concentrations (IC₅₀) of the extracts against Ht-29 ranged from 8.48 ± 2.4 % to 25.7 ± 2.39 %. Extract from Jilly Bean was identified as least cytotoxic, 2-fold higher concentration of this extract was necessary to reach IC₅₀ for Ht-29 and FHs 74 Int cells compare to the other extracts. In the Caco-2 colorectal adenocarcinoma cell lines, extracts from the Jilly Bean (SI = 0.44) and Nordle (SI = 0.59) genotypes were selectively cytotoxic. The highest positive selective cytotoxicity in the hepatocarcinoma cell lines Hep-G2 showed uniquely the Jilly Bean (SI = 0.62) genotype. Only in these two genotypes was detected β -selinene, whose genotype Jilly Bean had higher content than Nordle. It is believed that the presence of this sesquiterpene could affect the resulting positive selective cytotoxicity in Caco-2 colon cancer cells and Hep-G2 liver cancer cells.

At this time, in research on medical cannabis, attention is paid mainly to cannabis extracts and "Entourage Effect," the therapeutically effects of the complex spectrum of biologically active compounds. It is known from many studies that some substances may increase but also reduce or completely block the biological activity of other active substances in the plant or in their extract.

With more than 1200 different substances identified in cannabis, more than 700 different chemovars being bred in the world, not to mention the number of diagnoses or their different stages and the individual metabolism of each patient, research into cannabis treatment is still a long way to go. This study extended the list of described cannabis genotypes with stable cannabinoids content and some of the genotypes confirmed cytotoxic effects on selected human cancer cells.

Key words: medical cannabis, growing cycle, delta-9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol, terpenoids, gas chromatography, ethanolic extract, cytotoxicity

Obsah

1	Úvod.....	10
2	Hypotéza a cíle.....	12
3	Literární přehled.....	13
3.1	Botanika a taxonomie konopí (<i>Cannabis sativa</i> L.).....	13
3.2	Historie léčebného konopí.....	14
3.3	Legislativa léčebného konopí.....	16
3.3.1	Izrael.....	16
3.3.2	Spojené státy americké.....	17
3.3.3	Kanada.....	18
3.3.4	Evropská Unie (EU).....	19
3.4	Pěstování léčebného konopí.....	24
3.4.1	Pěstební cyklus.....	24
3.4.2	Základní technické požadavky na pěstební prostory.....	26
3.4.3	Pěstování v organických substrátech.....	28
3.4.4	Hydroponické systémy.....	28
3.4.5	Výživa rostlin v indoor podmínkách.....	30
3.4.6	Ochrana rostlin v indoor podmínkách.....	31
3.5	Zpracování léčebného konopí.....	35
3.5.1	Sklizeň a sušení.....	35
3.5.2	Homogenizace a ozařování.....	35
3.6	Biologicky aktivní látky v konopí.....	36
3.6.1	Kanabinoidní sloučeniny v konopí.....	36
3.6.2	Terpenické sloučeniny.....	40
3.6.3	Ostatní významné sloučeniny.....	41
3.6.4	Extrakce hlavních účinných látek.....	42
3.7	Léčebné účinky konopí.....	43
3.7.1	Endokanabinoidní systém.....	44
3.7.2	Nejčastější indikace, na které je konopí předepisováno.....	46
4	Materiál a metody.....	51
4.1	Pěstování rostlin léčebného konopí.....	51
4.1.1	Výchozí materiál.....	51
4.1.2	Pěstební podmínky.....	52
4.1.3	Výživa rostlin.....	53

4.2	Zpracování rostlin léčebného konopí	53
4.2.1	Sklizeň a sušení	53
4.2.2	Homogenizace	54
4.2.3	Extrakce.....	54
4.3	Kvalitativní a kvantitativní analýzy hlavních biologicky aktivních látek	54
4.3.1	Stanovení obsahu hlavních kanabinoidů	54
4.3.2	Stanovení relativního obsahu terpenických látek v konopných extraktech	55
4.4	Cytotoxicita konopných extraktů.....	56
4.4.1	Biologický materiál a chemikálie	56
4.4.2	Kultivace buněčných linií.....	56
4.4.3	Test cytotoxicity (MTT).....	57
4.5	Statistické vyhodnocení výsledků	57
5	Výsledky a Diskuze	58
5.1	Výnosy sušeného květenství a stabilita hlavních kanabinoidů.....	58
5.2	Výtěžnost ethanolových extraktů a jejich majoritní biologicky aktivní látky	65
5.3	Cytotoxicita konopných extraktů.....	70
6	Závěry	74
7	Literární zdroje	75
7.1	Internetové zdroje	83
8	Seznam a použité zdroje obrázků.....	85
9	Seznam a použité zdroje tabulek.....	88
10	Seznam použitých zkratk	89

1 Úvod

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.), lék, přadná rostlina, průmyslová a energetická plodina, i rekreační droga. Tolik velebené, a ještě více zatracované. Budeme-li věřit tomu, že konopí je „nebezpečná omamná látka“, která dělá uživatele „závislým“ a asociálním, tak sotva někdy dospějeme k hlubšímu poznání a pochopení role této neobyčejné rostliny (Rätsch, 1992). Jako léčivá rostlina se konopí užívalo již od nepaměti v mnoha národech a kulturách světa. Poslední dochované záznamy o používání konopí v medicíně pocházejí z Číny a jsou staré téměř 5000 let (Hanuš et Mechoulam, 2005).

Konopí je po chemické stránce velmi složitou rostlinou, neboť obsahuje obrovské množství sloučenin, které jsou zastoupeny téměř ve všech chemických skupinách. Z primárních metabolitů jsou to sacharidy, mastné kyseliny, aminokyseliny a nukleové kyseliny. Ze sekundárních metabolitů byly v konopí identifikovány kanabinoidy, terpenoidy, flavonoidy, steroidy, alkaloidy, lignany aj. (ElSohly et Slade, 2005). Majoritní účinnou látkou léčebného konopí je Δ^9 -tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC), který má významné terapeutické účinky. Další z hlavních účinných látek ze skupiny kanabinoidů je kanabidiol (CBD), který mimo jiné modifikuje účinky Δ^9 -THC, zmírňuje úzkost a psychotické stavy jím vyvolané. Obsah a poměr těchto 2 aktivních látek v konopí, je při léčbě pacientů velice důležitý. Na základě poměru Δ^9 -THC:CBD v rostlině by mělo být možné stanovit individuální dávkování vhodného genotypu pro konkrétní pacienty v závislosti na diagnóze a stadiu nemoci. Dále je jejich obsah a poměr jedním z hlavních a zákonem daných kvalitativních parametrů, které musí konopí pro léčebné účely splňovat. Stejně tak důležitý je však obsah a poměr i ostatních přítomných látek, které se na výsledném efektu podílejí, což zatím není legislativně ani v praxi příliš zohledňováno.

Vzhledem k psychoaktivní povaze majoritní účinné látky Δ^9 -THC a faktu, že konopí je nejčastěji používanou nelegální omamnou látkou nejen v Evropě, ale po celém světě, bylo konopí s vyšším obsahem této látky ve většině států světa dlouhou dobu kriminalizováno (Wilkinson et al, 2003; Hanuš, 2009). Léčivé vlastnosti konopných produktů byly uznávány po tisíciletí, ale legální využití v medicíně zůstává stále kontroverzní, přestože o konopí (*Cannabis sativa* L.) a kanabinoidech bylo publikováno přibližně 15000 článků (Hanuš, 2009). S objevem prvních endokanabinoidních receptorů přítomných v mozku potkanů, který byl učiněn koncem 80. let 20. století a obrovským rozvojem výzkumu endokanabinoidů (Devane et al, 1988) se pomalu začala situace ve světě měnit a v některých státech je již užívání léčebného konopí legalizováno.

V dubnu 2013 vešel v České Republice (ČR), v platnost Zákon 50/2013 Sb., kterým bylo umožněno pěstování a užívání konopí pro léčebné použití. Česká zemědělská univerzita v Praze byla první institucí v ČR, jenž pro výzkum začala legálně pěstovat konopí s vyšším obsahem Δ^9 -THC, než je 0,3 % v indoor podmínkách.

Celosvětově významně stoupá počet civilizačních a autoimunitních chorob, jako jsou například různá nádorová onemocnění nebo roztroušená skleróza. Ve státech, kde je konopí pro léčbu legalizováno, je na tyto diagnózy předepisováno nejčastěji. Je tedy velice důležité detailně popsat co nejvíce genotypů konopí, kterých bylo vyšlechtěno více než 700 a jsou šlechtěny další. Je třeba studií o jejich pěstování a potenciálních výnosech, o chemickém profilu a jeho stabilitě a v neposlední řadě je nutné alespoň prozatím *in vitro*, popsat jejich biologickou aktivitu. Jen tak bude možné je doporučit konkrétnímu pacientovi na určité stadium jeho onemocnění. Je však dobré mít na paměti, že konopí není panaceum a jak zdůrazňuje doc. Hanuš, obecně platí 4 NE-. Konopí NE-musí pomoci každému, NE- vždy, NE- na každou diagnózu a NE- na každé stádium.

Mnohé z vyšlechtěných genotypů mají společné předky, však chemickým složením se značně liší a jejich biologická aktivita dosud nebyla prozkoumána (Hazeckamp, 2012). Otázkou tedy stále zůstává, které z mnoha genotypů, by měly být k dispozici pro používání v medicíně.

2 Hypotéza a cíle

Po tisíciletí je tato rostlina lidmi využívána jako lék proti nejrůznějším zdravotním potížím i pro udržení dobrého zdravotního stavu hospodářských zvířat a rostlin. Již z této skutečnosti a z relevantních studií kvalitních světových chemiků, je známo, že účinné látky v konopí terapeuticky působí v mnoha tkáních lidského a živočišného organismu i v pletivech organismů z říše rostlinné.

Genotypy, které byly předběžně vybrány, budou po stránce chemického složení vhodné pro léčebné použití dle české a zahraniční legislativy. Genotypy budou vhodné pro pěstování v indoor podmínkách. Extrakty vyrobené z vypěstovaného konopí budou vykazovat cytotoxickou aktivitu v *in vitro* podmínkách.

Cíle:

1. Detailně popsat co nejvíce genotypů konopí, které budou svým obsahem zejména hlavních kanabinoidů vyhovovat potřebám pacientů a požadavkům Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL, MZ ČR). V průběhu několika kontinuálně jdoucích pěstebních cyklů tak potvrdit stabilitu genetického potenciálu jednotlivých genotypů (především biologicky aktivních látek a výnosů květenství).
2. Vybrat kvalitní mateřské rostliny s ustálenou genetikou pro další výchozí materiál potřebný do následujících cyklů a případnou registraci odrůdy léčebného konopí v ČR dle aktuální legislativy.
3. Potvrdit pomocí *in vitro* testů cytotoxické účinky konopných extraktů z různých genotypů na různých buněčných liniích.

3 Literární přehled

3.1 Botanika a taxonomie konopí (*Cannabis sativa* L.)

Konopí seté je řazeno do čeledi konopovité (*Cannabaceae*), do níž je řazena ještě jedna hospodářsky i farmaceuticky významná rostlina, a to chmel otáčivý (*Humulus lupulus*). Konopí jako samostatný druh bylo poprvé odborně popsáno a zařazeno v roce 1737, když švédský botanik Carolus Linnaeus objevil rostlinu v podhůří Himaláje v Indii. V roce 1785 objevil francouzský biolog Jean Baptiste de Lamarck ve východní části Indie také rostlinu konopí a popsal jej jako další druh *Cannabis indica*. Botanik Dmitrii E. Janischewsky našel v roce 1924 v jihovýchodním Rusku také konopí a popsal ho jako druh *Cannabis ruderalis* (Mioviský et al, 2008). Poslední studie však uvádějí, že taxonomicky je pouze jeden druh konopí, a to *Cannabis sativa* L. a jeho tři poddruhy: seté (*C. sativa* ssp. *sativa*), indické (*C. sativa* ssp. *indica*) a rumištní (*C. sativa* ssp. *ruderalis*), (Casano et al, 2011).

Konopí je dvouděložná rostlina, která je schopna růst téměř ve všech klimatických pásmech samozřejmě s výjimkou pouští a polárních oblastí. Je rostlinou přirozeně krátkodenní a jednoletou, její víceletost závisí na fotoperiodickém cyklu dané oblasti nebo na řízených podmínkách ve skleníku či v kultivační místnosti (Knight et al, 2010).



Obrázek 1: Rozdíl mezi poddruhy *C. sativa* ssp. *sativa* (vpravo) a ssp. *indica* (vlevo) u mateřských rostlin léčebného konopí pěstovaných v Izraeli společností Better (autorka, 2017).

3.2 Historie léčebného konopí

Který Člověk může říci, že zde na Zemi byl dříve než léčivé rostliny, mezi něž konopí nesporně patří. V nejstarším dochovaném lékopisu Pen-Tsao Ching, jehož autorem je císař Shen-Nung, otec Tradiční čínské medicíny, je konopí doporučováno např. proti malárii, revmatu, beri-beri a dalších onemocněních (Martin, 2012; Grotenhermen et Morgan, 2009). Shen-Nung již v té době doporučoval v Číně pěstovat pouze samičí rostliny konopí, které podle něj mají mnohem větší potenciál k léčebnému využití (Mioviský et al, 2008). Výtažek z rostlin Shen-Nung předepisoval i na choroby závažnějšího charakteru. Jeho následovníci pak pokračovali v aplikaci konopné tinktury, kterou využívali k anestezii spolu s dalšími látkami při vážných operacích (Nahas et al, 1999). Konopí jako lék bylo také popsáno v téměř 3000 let starém lékopise národa Asyrského (Mioviský a kol., 2008). Stejně tak Ayur Véda („věda o dlouhém životě“) jako doplněk spisu Atharva Vědy, ve které se objevuje konopí jako léčivý prostředek pod jménem Vijaya. Tyto spisy vznikaly v období 1500–500 let př. Kr. a spolu s Rgh Védou jsou považovány za nejstarší knihy indické či hinduistické medicíny (Pollak, 1976). Z téže doby je známo, že konopím se ve starém Egyptě léčily záněty a Egyptané ho nazývali „Šm-šm-tu“ (Scholl, 2002; Manniche, 1989).

Okolo roku 79 doporučoval Plinius st. ve svých spisech používat kořen konopí k léčbě artritidy a proti bolestem. Dioscorides přibližně ve stejné době doporučoval k léčbě také kořen, ale proti zánětům a otokům (Rätsch, 1992).

Z jeho léčebných i psychoaktivních účinků se těšili také Skhytové (dnešní Ukrajina), islámský svět a mnoho dalších národů až po dnešek. Dnes se však vracíme přibližně o 100 let v čase zpět, kdy konopné přípravky byly běžně k sehnání v lékárnách či apatikách. V roce 1937 bylo však na popud H. J. Aslingera pěstování a užívání konopí zakázáno ve 46 z 48 členských států USA. V roce 1941 bylo ve Spojených státech dokonce konopí vyškrtáno ze seznamu léčiv (Gabrielová, 2011).

Po roce 1950 se český vědec Zdeněk Krejčí začal na Lékařské Fakultě Univerzity Palackého v Olomouci (LF UP) věnovat výzkumu konopí a jeho léčebnému potenciálu. Znovuobjevil, ale neprorazil, i když svoji snahu dotáhl až ke konferenci (v roce 1954) na téma Konopí jako lék (Hanus, 2010). První kanabinoidní látka totiž byla izolována již roku 1899 T. B. Woodem et al, kterou nazvali kanabinol (CBN). Její přesná chemická struktura však byla určena až v roce 1940, dvěma na sobě nezávislými vědeckými týmy kolem A. R. Todda a R. Adamse. Adams také jako první izoloval a popsal další dvě z hlavních účinných látek, a to CBD a Δ^9 -THC, pouze se mu nepodařilo správně určit polohu dvojně vazby v terpenickém cyklu a absolutní

konfiguraci. Roku 1964 vyšla v Acta Universitatis Palackianae práce českého vědce Františka Šantavého, zasláná k publikaci v roce 1963. Je v ní popsána nejen správná poloha dvojnásobné vazby v terpenickém cyklu CBD, kyseliny kanabidiolové (CBDA) a Δ^9 -THC, ale také jejich absolutní konfigurace. V téže roce publikovali Yehiel Gaoni a Raphael Mechoulam práci, podanou k tisku v únoru 1964, ve které se jim také podařilo správně určit polohu dvojnásobné vazby v terpenickém cyklu. Ale až o tři roky později potvrdili tutéž absolutní konfiguraci Δ^9 -tetrahydrokanabinolu, kterou již popsal Šantavý (Hanuš, 2012).

Zároveň v té době nastal v USA zásadní zlom spojený s generací Hippies, kdy Organizace spojených národů (OSN) v roce 1961 vydala Jednotnou úmluvu o návykových látkách, tzv. Jednotnou konvenci, jejímž jedním z hlavních cílů bylo do 25 let vymýtit užívání konopných drog. Konvence definuje seznam omamných látek převážně rostlinného původu a rozděluje je do čtyř seznamů (Schedule I – IV). Látky a jejich sloučeniny zde uvedené se liší co do stupně kontroly od nejprísnejší (seznam I) po méně prísnu (seznam IV). Konopí je v seznamu I a IV, kdy do seznamu I jsou řazeny ty nejrizikovější látky s žádným nebo zanedbatelným léčebným potenciálem jako je například heroin. V této době zmizelo konopí a konopné přípravky s vyšším obsahem Δ^9 -THC z lékáren téměř po celém světě (United Nations, 2016; Miovský a kol., 2008).

S objevem prvních kanabinoidních receptorů přítomných v mozku potkanů, který byl učiněn koncem 80. let 20. století a obrovským rozvojem výzkumu endokanabinoidů (celkem více než 2000 článků) se pomalu začala situace ve světě měnit a v některých státech je již užívání léčebného konopí legální. Například v Izraeli je konopí dekriminlizováno od počátku 90. let, v Kalifornii od roku 1996, v Kanadě od roku 2001, v Holandsku od roku 2003 a v roce 2013 konečně i v České republice. Systém u nás však zatím téměř nefunguje a čeští pacienti se i nadále konopím léčí sami, za což jsou navíc trestně stíháni.

3.3 Legislativa léčebného konopí

3.3.1 Izrael

V Izraeli bylo konopí pro léčebné účely legalizováno v roce 1993 a je v tomto státě patrné, že nejen v produkci ale i léčbě konopím jsou světovou špičkou. V současné době se zde léčí konopím okolo 40 000 pacientů, což je trojnásobek než v roce 2014. Je zde 8 pěstitelů s oprávněním Ministerstva zdravotnictví, kteří ročně produkují okolo 26 tun sušeného květenství různých genotypů konopí (více než 200). Na tyto pěstitele dohlíží Státní agentura pro léčebné konopí. Mezi největší producenty patří Candok, Better, Breath Of Life a Tikun Olam. Lékaři s oprávněním mohou pacientovi předepsat až 180 g/měsíc konopí, kdy cena je paušální (Hanuš, 2019).



Obrázek 2: Ředitel Státní agentury pro LK Yuval Landshaft (uprostřed) v jedné z izraelských pěstíren (autorka, 2017).



Obrázek 3: Lékové formy aplikace používané v Izraeli vyráběné společností Cannabliss (autorka, 2017)

3.3.2 Spojené státy americké

Ve Spojených státech amerických (USA) bylo léčebné konopí (LK) znovu-dekriminalizováno v roce 1996 v Kalifornii a pomalu ale jistě se k ní ostatní státy USA přidávají. Každý stát si určuje svoje právní předpisy (Tabulka 1). V současné době je ve 33 státech a Washingtonu DC umožněno pěstování a užívání konopí na řadu vážných zdravotních problémů a také pro zlepšení fyzického i psychického stavu v posledních fázích života. Například v Arizoně zákony povolují příslušným pacientům nebo jejich registrovaným ošetřovatelům získat až 70,875 g konopí na 14 dnů od registrované neziskové výdejny LK. Pokud pacient žije více než 25 mil od nejbližší výdejny, může pacient nebo ošetřující pracovník v indoor podmínkách pěstovat až 12 rostlin konopí (ProCon, 2019).

Tabulka 1: Přehled států USA, kde je konopí pro léčebné účely dekriminalizováno

Stát	Rok dekriminalizace	Maximální povolené množství k použití (unce převedené na gramy)	Povolené množství pěstovaných rostlin
Aljaška	1998	1 unce = 28,35 gramu	3 sklizené, 3 nesklizené
Arizona	2010	70,875/14 dní	12
Arkansas	2016	70,875/14 dní	-
Kalifornie	1996	226,8	6 sklizených, 12 nesklizených
Colorado	2000	56,7	3 sklizené, 3 nesklizené
Connecticut	2012	70,875/měsíc	-
Delaware	2011	85,05/14 dní	-
Florida	2016	individuálně určuje lékař	-
Havaj	2000	113,4	7
Illinois	2013	70,875/14 dní	-
Maine	1999	70,875	6
Maryland	2014	120	-
Massachusetts	2012	283,5/60 dní	-
Michigan	2008	70,875	12
Minnesota	2014	nekuřácké formy aplikace dle lékaře/30 dní	-
Montana	2004	28,35	4 sklizené, 12 sazenic
Nevada	2000	70,875/14 dní	12
New Hampshire	2013	56,7/10 dní	-
New Jersey	2010	56,7/30 dní	-
New Mexiko	2007	226,8/3 měsíce	4 sklizené, 12 nesklizených
New York	2014	nekuřácké formy aplikace dle lékaře/30 dní	-
North Dakota	2016	85,05/14 dní	-
Ohio	2016	nekuřácké formy aplikace dle lékaře/90 dní	-
Oregon	1998	680,4	-
Pennsylvania	2016	individuálně určuje lékař na 30 dní	-
Rhode Island	2006	70,875/měsíc	12
Vermont	2004	56,7	2 sklizené, 7 nesklizených
Washington	1998	85,05; 7484,4 (infuzně); 21 (v koncentrátu)	6
Washington, DC	2010	56,7 (pouze sušené)	-
West Virginia	2017	nekuřácké formy aplikace dle lékaře/30 dní	-

(https://medicalmarijuana.procon.org/view_resource.php?resourceID=000881, 2019)

3.3.3 Kanada

V Ontariu bylo roku 2001 schváleno Ministerstvem zdravotnictví užívání LK, kde je poskytováno pacientům k úlevě od bolesti při bolestivých a nevléčitelných onemocněních.

V Kanadě se pěstování LK postupně vyvinulo ve dvou paralelních směrech. Jedním je absolutně bezpečný, vládou podporovaný systém licencovaných pěstitelů a distribuce semen. Konopí je prostřednictvím pověřené státní agentury vykupováno za cenu odpovídající nákladům. Druhým směrem, o něco méně bezpečným však levnějším, je systém domácího pěstování nebo delegování pěstování na další osobu (např. kvalifikovaného ošetřovatele). Jak si opatřit léčebné konopí závisí zcela na rozhodnutí uživatele, neboť jedině on ví, co jeho organismu prospívá a jaké genotypy jsou pro jeho léčbu vhodné či nikoliv. V současné době se v Kanadě léčí téměř 400 000 pacientů, přibližně 350 000 pacientů používá konopí od státem licencovaných pěstitelů a okolo 40 000 pacientů si pěstuje konopí vlastní. Oficiálním vládním dodavatelem LK je například společnost Aurora, Tilray či Prairie Plant Systems (Health Canada, 2019).

Dne 17. října 2018 bylo kanadskou federální vládou legalizováno také rekreační užívání konopí, které je příslušnými zákony regulováno. Je zohledněn například zákaz podávání konopí dětem a mladistvým mladším 19 let a také je kladen důraz na udržení bezpečnosti silničního provozu. Legalizace konopí pro rekreační užívání by měla pomoci i v boji proti černému trhu s drogami (Ontario, 2019)



Obrázek 4: Příklady kanadských produktů určených k léčebnému (sušené květenství a olej) i rekreačnímu používání (konopné cigarety), (GETTY IMAGES, 2018)

3.3.4 Evropská Unie (EU)

U některých států EU byla ještě před legalizací LK snaha vytvořit tzv. konopné společenské kluby (CSC), které by měly sloužit k distribuci rekreačního konopí (RK) a v některých státech byly pokusy začlenit pod CSC i LK. Však ze strany vnitrostátních orgánů jednotlivých zemí EU nemusí být a v mnoha případech nejsou CSC tolerovány. Tento model funguje v některých regionech Španělska, Německa, Belgie, Francie, Holandska a Slovinska (EMCDDA, 2014). V loňském roce (2018), začali pracovat na přípravě tohoto modelu (CSC), někteří členové Rady města Brna. Pokud se jim tento návrh podaří prosadit, můžeme v blízké době očekávat, že v Brně vznikne 1. Konopný společenský klub v České Republice (Vobořil, 2019).

Hlavními iniciátory dekriminace LK v Evropě byly Spojené království a Švýcarsko, kde je pacientům podáváno vysoce kvalitní konopí, jeho deriváty nebo standardizovaný extrakt (Hazekamp, 2006).

Prvním státem EU, kde bylo legalizováno pěstování a užívání konopí pro léčebné účely je Holandsko (2003). V Itálii bylo užívání léčebného konopí povoleno v roce 2007, ale jeho pěstování až v roce 2014 a pěstuje ho armáda ve Vojenské farmaceutické továrně ve Florencii, dle správné výrobní praxe EU (Zaami et al, 2018). V roce 2013 bylo používání a pěstování LK povoleno v České republice. Ostatní státy EU začínají v posledních dvou letech jeden po druhém také užívání LK legalizovat, však jejich zákony zatím neumožňují jeho pěstování. Mezi tyto státy patří například Německo, Portugalsko, Makedonie, Chorvatsko, Polsko, Malta a další. Česká Republika měla díky povolení nejen užívání ale i pěstování LK obrovský náskok (5 let), který, se obávám, naprosto zbytečně ztratila, čímž pomalu ztrácí i světovou konkurenceschopnost v této oblasti.



Obrázek 5: Přední a zadní strana členské kartičky do jednoho z Konopných společenských klubů v Barceloně (autorka, 2019)

Holandsko

V Holandsku bylo od 70. let 20. století užívání konopí pro rekreační účely regulováno mírněji než v ostatních zemích světa (Dolin, 2001) a uživatelům je distribuováno pomocí tzv. „Coffee shopů“.

Od roku 2003 je zde legální pěstování a užívání konopí pro léčebné účely. Pěstování LK a jeho výzkum zajišťuje pro celé Holandsko jediná společnost pověřená Ministerstvem zdravotnictví, sociální péče a sportu – Bedrocan BV Medicinal Cannabis. V počátcích legalizace LK v ČR, sloužil tento holandský systém českým zákonodárcům jako vzor k vytvoření platné legislativy pro LK.



Obrázek 7 a 8: Popis genotypu Bedrocan (Jack Herrer – Sensi seeds, Holandsko) a ukázka balení ostatních genotypů produkovaných monopolní společností Bedrocan BV Medicinal Cannabis (Harvest Medicine, 2017; Miller, 2018).

Česká Republika

V České republice vstoupil v dubnu 2013 v platnost zákon č. 50/2013 Sb. „Zákon, kterým se mění zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů, 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“, jenž umožňuje pěstování a užívání konopí pro léčebné účely. V červenci 2013 byl doplněn vyhláškou č. 221/2013 Sb., která byla 4. 9. 2015 novelizována vyhláškou č. 236/2015 Sb. „Vyhláška, kterou se stanovují podmínky pro předepisování, přípravu, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití“ (dále jen vyhláška).

Právní úprava v současnosti umožňuje pěstování konopí pro léčebné použití na základě licence udělené Státní agenturou pro konopí pro léčebné použití (SAKL), která je součástí Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL) MZ ČR. Činnost SAKL by měla zahrnovat udělování licencí k pěstování konopí pro léčebné použití, zajištění výkupu vypěstovaného a sklizeného konopí pro léčebné použití a jeho distribuci. Dále plní podle výše uvedeného zákona veškeré informační povinnosti vůči Ministerstvu zdravotnictví ČR a Policii ČR. Je politování hodné, že ani po pěti letech od legalizace léčebného konopí, je tento systém nefunkční a produkci konopí zajišťuje v ČR pouze jedna licencovaná společnost.

Společnost Elkoplast Slušovice s.r.o. byla první společností, která vyhrála 1. tendr a začala pod licencí SAKL pěstovat léčebné konopí. Jeho výkupní cena činila 68 Kč, tudíž bylo pro pacienty dostupné přibližně za 100 Kč. V průběhu se však ze strany SÚKL neoprávněně vyskytly jisté problémy týkající se např. certifikátu kvalitativních parametrů či nedodržení smluvně stanovených termínů. Společnost Elkoplast musela produkci zlikvidovat, a ještě zaplatit SÚKL drakonické pokuty. I přes to všechno se společnost Elkoplast přihlásila do dalšího tendru, ale výkupní cena je téměř 150 Kč. Lze konstatovat, že ČR ztratila v tomto odvětví pětiletý náskok a konkurenceschopnost. V lékárnách je nedostatek českého konopí a konopí dovezené převážně z Kanady, je mnohdy levnější než to české (SÚKL, 2019).

Dalším důvodem disfunkce tohoto systému je, že v mnoha případech vědí o léčbě konopím a jeho dávkování více pacienti než lékaři. Českým lékařům dosud nikdo neposkytl o LK a endokanabinoidním systému adekvátní vzdělání a mají tudíž oprávněné obavy ho svým pacientům předepisovat. Tato skutečnost však vede k nízké poptávce na trhu, tudíž je jeho produkce pro pěstitele stále ekonomicky nerentabilní.

Tabulka 2: Příloha č. 1 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.: Druhy konopí pro léčebné použití

Povinně uváděný údaj	Charakteristika / přípustné hodnoty
Druh konopí	Cannabis indica L. nebo Cannabis sativa L.
Obsah Δ -9-THC	Vyjádřený obsah v procentech v rozmezí 0,3 % - 21,0 %. Faktický obsah Δ -9-THC v konopí pro léčebné použití se nesmí odchýlit o více než ± 20 % pěstitelům uváděné hodnoty.
Obsah CBD	Vyjádřený obsah v procentech v rozmezí 0,1 % - 19,0 %. Faktický obsah CBD v konopí pro léčebné použití se nesmí odchýlit o více než ± 20 % pěstitelům uváděné hodnoty.

Tabulka 3: Příloha č. 2 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.: Kritéria pro konopí pro léčebné použití

Parametr	Metoda	Limit
Totožnost		
Makroskopický popis	Vizuální	Celá nebo nařezaná usušená vrcholičnatá květenství tmavě zelené, šedo-zelené až hnědozelené barvy složená do hustých klasů. Drobné květy jsou obaleny listeny, porostlými z horní strany žláznatými chlupy.
TLC ^{a)}	ČL ^{b)} 2.2.27	vizuální hodnocení
Zkoušky na čistotu		
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 $\mu\text{g/g}$ Cd - max. 1,0 $\mu\text{g/g}$ Hg - max. 0,1 $\mu\text{g/g}$
Aflatoxiny - Aflatoxin B ₁	ČL 2.8.18	max. 2 $\mu\text{g/kg}$
- Celkový obsah aflatoxinů B ₁ , B ₂ , G ₁ a G ₂		max. 4 $\mu\text{g/kg}$
Mikrobiologická jakost ČL 5.1.4	ČL 2.6.12 a 2.6.13	max. 10 ³ CFU ^{e)} /g
- TAMC ^{c)}		max. 10 ² CFU/g
- TYMC ^{d)}		
Rozkladné produkty - cannabinol	HPLC ^{f)} - ČL 2.2.29	max. 1 %
Obsah		
- THC (DELTA-9-tetrahydrocannabinol) - CBD (cannabidiol)	HPLC - ČL 2.2.29	± 20 % deklarovaného obsahu THC nebo CBD

V Tabulce 2 a 3 si lze všimnout drobných chyb ve vyhlášce 236/2015 Sb., které mnohdy mohou způsobit po právní stránce velice nepříjemná nedorozumění. Například: „Cannabis indica L.“, je uvedeno jako druh, přičemž je to poddruh *Cannabis sativa* L. a navíc jej nepopsal Linnaeus, ale Lamarck.

Tabulka 4: Příloha č. 3 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.: Indikace a specializovaná způsobilost předepisujícího lékaře

Indikace	Specializovaná způsobilost lékaře
chronická neutišitelná bolest (zejména bolest v souvislosti s onkologickým onemocněním, bolest spojená s degenerativním onemocněním pohybového systému, systémovým onemocněním pojiva a imunopatologickými stavy, neuropatická bolest, bolest při glaukomu)	klinická onkologie 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

3.4 Pěstování léčebného konopí

Má-li konopí splňovat kvalitativní parametry standardizovaného léčiva, je nutné, aby byly rostliny pěstovány v neměnných striktně řízených a hygienicky bezpečných podmínkách. Pro splnění těchto legislativních požadavků jednotlivých států je nejvhodnější pěstovat rostliny pomocí indoor pěstebních technologií.

Na světovém trhu existuje velké množství indoor pěstebních systémů, které byly speciálně vytvořeny pro pěstování zejména konopí, ale i jiných rostlin. Jednotlivé systémy se od sebe mnohdy velmi výrazně liší. Některé jsou jednodušší na obsluhu, v jiných lze dosáhnout maximálního růstu a vyšší produkce. Rozdíly jsou patrné také v použitém osvětlení, či výživě rostlin. Každý ze systémů má své vlastní charakteristické rysy a výhody a nevýhody oproti ostatním.

3.4.1 Pěstební cyklus

Průměrný pěstební cyklus (PC) rostlin konopí v řízených podmínkách trvá celkem 100 – 120 dnů a lze jej rozdělit do tří základních fází uvedených níže. Záleží především na genetickém potenciálu a kvalitě mateřských rostlin, ze kterých jsou tzv. řízkováním produkovány zdravé uniformní klony. Dalšími významnými faktory nezbytnými pro ideální průběh PC, je dodržení optimální fotoperiody, vhodných klimatických podmínek a v neposlední řadě výživového režimu (Adams, 2012).

Fáze I.: Zajištění kvalitních sazenic

Sazenice konopí je možné předpěstovat z regulérních či feminizovaných semen, nebo pomocí tzv. řízků (klonů). Příprava kvalitních sazenic ze semen je oproti řízkování poměrně nejistá, zdlouhavá a náročná. Klíčící rostlinky jsou velmi náchylné na choroby, škůdce, či chyby pěstitele. Navíc u regulérních semen je nutné selektovat samčí rostliny, neboť obsahují minimum účinných látek a opylení samičích rostlin léčebného konopí výrazně snižuje jeho kvalitu.

V případě LK je standardní metodou příprava sazenic v podobě řízků. Jejich růst a tvorba kořenového systému je podstatně rychlejší (přibližně 2 týdny), než u semen (více než 1 měsíc), s ohledem na použité technologie (Taxier, 2015). Další nespornou výhodou řízkování je uniformita sazenic, neboť každý řízek (klon) by měl být věrnou genetickou kopií mateřské rostliny. Mateřské rostliny bývají většinou kultivovány v odděleném prostoru, kde jsou pomocí

dlouhé fotoperiody, tzn. 18 hodin světla a 6 hodin tmy (18/6) udržovány pouze ve vegetativní fázi (Adams, 2012).

Fáze II.: Vegetativní

Fáze II.: vegetativní neboli fáze růstu se s fází I. úzce prolíná, neboť začíná klíčením semene či počínajícím kořeněním řízku. Optimální fotoperioda je 18 hodin světla a 6 hodin tmy (18/6). Rostlina konopí, je v této fázi schopna růst i při nepřetržitém svícení, tvorba kořenového systému probíhá přirozeně v noci. Rostlina tudíž potřebuje v nejranějším období již zmíněných 6 h tmy. Teplota vzduchu by se měla pohybovat v rozmezí 21–28 °C a vlhkost vzduchu v rozmezí 70–80 %. Jakmile má rostlina dostatečně vyvinutý kořenový systém, je vysoká vlhkost vzduchu méně důležitá. Výživa rostlin by měla být přizpůsobena nejen doporučenému dávkování výrobce (Kapitola 3.4.5 Výživa rostlin), ale zejména potřebám a zdravotnímu stavu rostlin, rychlosti jejich růstu a kvalitě vody. Období od zakořenění a přesazení sazenic do substrátu po přechod do fáze generativní trvá přibližně 4 týdny (Adams, 2012; Vanhove et al, 2011; Vanhove et al, 2012).

Fáze III.: Generativní

Fáze III.: generativní neboli fáze kvetení nastává zkrácením světelného režimu z 18/6 na 12/12 (12 hodin světla a 12 hodin tmy). Teplota vzduchu by se měla pohybovat v rozmezí 21–28 °C a vlhkost vzduchu by se měla úměrně snižovat se stářím rostliny. Ve finálních fázích PC, by neměla vzdušná vlhkost překročit 40 %, aby nedošlo k napadení květenství houbovými chorobami. Úměrně se stářím rostliny se také zvyšuje příjem živin (Kapitola 3.4.5 Výživa rostlin). Poslední 2 týdny PC je doporučováno, zalévat rostliny pouze čistou vodou s upraveným pH, aby byly přebytečné elementy vyplaveny (Adams, 2012; Vanhove et al, 2011; Vanhove et al, 2012).



Obrázek 8: Jednotlivé vegetační fáze rostlin pěstovaných v indoor podmínkách na FAPPZ (autorka, 2015)

3.4.2 Základní technické požadavky na pěstební prostory

Legislativa každého státu je více či méně odlišná, má-li však konopí splňovat parametry léčiva, musí být pěstováno ve standardizovaných a hygienicky nezávadných podmínkách. Dalším nezbytným parametrem je dokonalé zabezpečení kultivačních prostor, neboť dle Zákona 167/1998 Sb. O návykových látkách, je stále konopí považováno za psychoaktivní a návykové.

Osvětlení

Jedná se především o intenzitu světla, spektrum světla, a fotoperiodu. Intenzita osvětlení (E) udává poměr světelného toku (lm) k osvětlené ploše (m^2). Jednotkou jsou luxy (lx). Intenzita osvětlení se rovná jednomu luxu, když dopadá 1 lm na 1 m^2 . Při kultivaci konopí je doporučeno nejméně $30\ 000\text{ lm/m}^2$. Při hydroponickém pěstování a externím dodáváním CO_2 lze navýšit osvětlení až k $80\ 000\text{ lm/m}^2$ (Adams, 2012).

Spektrum světla je stejně významné, jako jeho intenzita. Rostliny potřebují jiné světelné spektrum v růstové fázi a jiné ve fázi květové. V růstové fázi je ideální spektrum modré ($420\text{--}460\text{ nm}$), protože v rostlině převažuje chlorofyl B. Modré spektrum významně u rostlin stimuluje produkci růstových hormonů a podporuje fototropismus. Ve fázi květu je naopak vhodnější spektrum červené ($600\text{--}680\text{ nm}$), které zachycuje chlorofyl A (Berrea, 2013). Pomocným ukazatelem při výběru umělého osvětlení je teplota chromatičnosti neboli barevná teplota, která se udává v Kelvinech (K). Čím je teplota chromatičnosti nižší, tím lépe se hodí zdroj světla na květ. A čím je vyšší, tím více obsahuje světelný zdroj modrého světelného spektra, které se hodí především na růst.

Při indoor pěstování je na výběr z několika druhů osvětlení. Pro malé sazenice a řízků jsou nejčastěji využívány trubicové zářivky, které díky jejich velmi malému tepelnému vyzařování, lze instalovat těsně nad rostlinky, kterým tak nehrozí popálení. V průběhu růstové fáze jsou vhodné zejména metal-halogenidové (MH) výbojky, skleněné trubice naplněné směsí různých plynů. Pro fázi generativní jsou vhodnější vysokotlaké sodíkové výbojky (HPS). Vypadají podobně jako MH výbojky, ale jsou naplněny jinými plyny. Tyto výbojky se nejčastěji vyrábí o příkonu 250 W , 400 W , 600 W nebo 1000 W a jejich světelný tok je výrazně vyšší, než u ostatních zdrojů světla (Szanto et al, 1989; Akutsu et al, 1984). Posledním typem osvětlení, jsou LED diody.

Vzduchotechnika a vlhkost vzduchu

Dle velikosti pěstební místnosti je třeba přizpůsobit cirkulaci vzduchu tak, aby v ní byla udržována stabilní atmosféra včetně požadované vlhkosti a byl zajištěn přísun kyslíku (O_2) a oxidu uhličitého (CO_2). Při nedostatku CO_2 ve vzduchu dochází ke snížení intenzity fotosyntézy a odumírání rostlin. Tento nedostatek může nastat během světelné fáze fotosyntézy, kdy spotřeba CO_2 převažuje nad jeho produkcí. Dostatečné množství O_2 a CO_2 i udržení optimální teploty v kultivační místnosti lze zajistit výměnou vzduchu pomocí odtahového ventilátoru. Dále jsou používány různé typy ventilátorů otočných nebo stacionárních, které nahrazují rostlinám přirozený venkovní pohyb vzduchu, což přispívá k jejich posílení a odolnosti. Pro zajištění požadované vlhkosti v daném prostředí jsou nejčastěji používány ultrazvukové zvlhčovače (Adams, 2012).

Dle zvoleného druhu osvětlení a teplotě v místnosti v průběhu roku, je nutné zvážit použití adekvátní klimatizační jednotky.

Výpočet pro ideální velikost odtahového ventilátoru:

Objem místnosti, např.: $3 \times 4 \times 3 = 36 \text{ m}^3$ – vzduch je třeba měnit zhruba každých 5 minut, takže za 1 hod je vyměněn přibližně 12×. Z toho vyplývá, že odtahový ventilátor by teoreticky měl mít výkon $432 \text{ m}^3/\text{h}$ (12×36).



Obrázek 9: Odtahový ventilátor a zásobník na živný roztok s čerpadlem (autorka, 2015).

3.4.3 Pěstování v organických substrátech

Organické substráty jsou pro rostliny jednoznačně nejpřirozenějším pěstebním médiem. Substrát určený k pěstování konopí by měl být vzdušný a lehký. Měl by dobře odvádět vodu a mít pH kolem 6,5 (Adams, 2012). Nejčastěji jsou používány směsi, jejichž základ je z většiny procent tvořen rašelinou nebo kokosovým vláknem.

Organické substráty však mohou být mnohdy hlavním zdrojem kontaminace prostředí nežádoucími patogeny v podobě bakterií, houbových chorob a škůdců. Z tohoto důvodu nejsou příliš vhodné pro pěstování LK (Taxier, 2015).

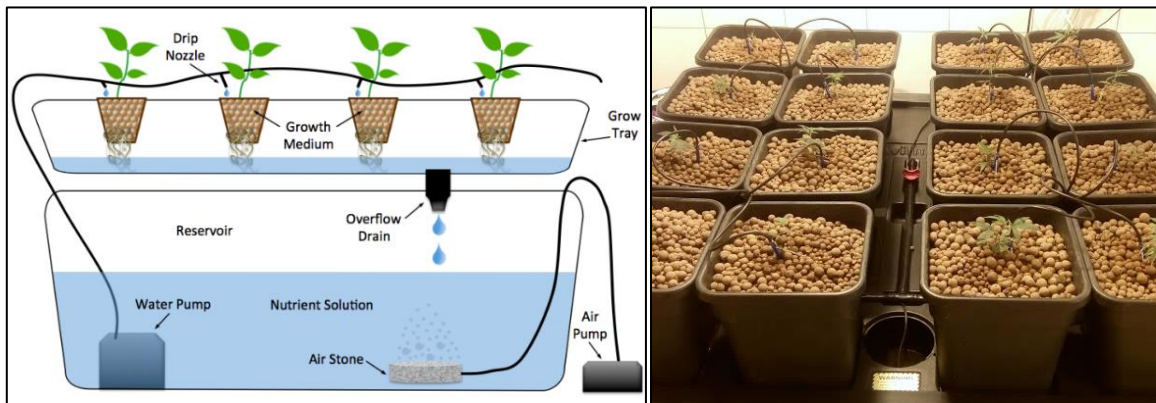
3.4.4 Hydroponické systémy

Historicky dochované zmínky o hydroponii pocházejí z roku 1699. Anglický historik a botanik John Woodward provedl experiment s mátou peprnou (*Mentha piperita*). Jednu třetinu rostlin kultivoval v dešťové vodě, druhou ve vodě z Temže a třetí v kalné vodě z kanálu. Poznamenal si váhu rostlin před kultivací a po sklizni. U rostlin, které byly pěstovány v odpadní vodě, byly zaznamenány nejvyšší přírůstky biomasy. Z toho usoudil, že rostliny získávají živiny prostřednictvím vody, jak volné, tak vázané.

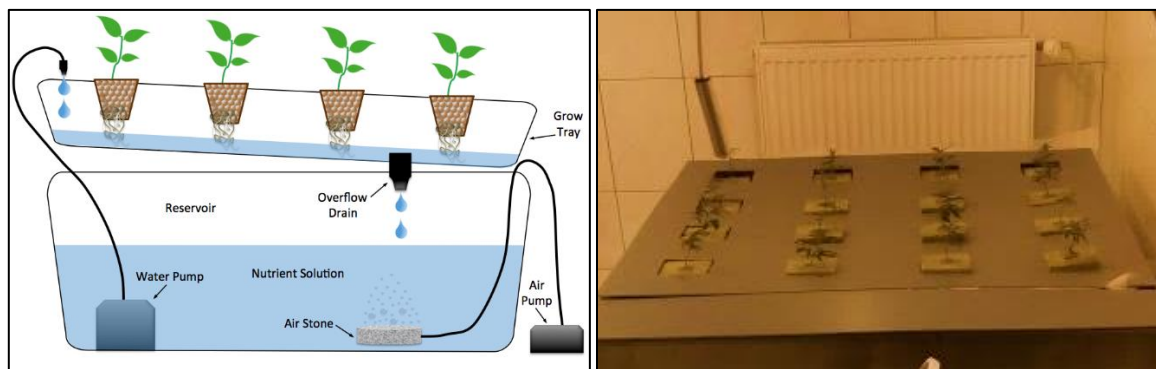
V dnešní době jsou technologicky tyto systémy na velice vysoké úrovni. Automatizací lze zajistit jejich soběstačnost a hydroponii lze nazvat hygienicky bezpečnou technologií pro produkci rostlinných léčiv. Jediným rizikem těchto systémů může být bakteriální kontaminace. Voda v pěstírně má obvykle průměrnou teplotu okolo 25 °C a lehce kyselější pH, tudíž je ideálním prostředím pro rozvoj bakterií. Jsou-li nádrže součástí pěstírny, je vhodné pravidelné čištění, okysličování vody vzduchovacími kameny a ochrana roztoku před světlem.

V hydroponických systémech jsou používána různá kultivační media z inertních materiálů, která slouží jako nosiče pro rostliny a zásobárna kyslíku (Adams, 2012). Mezi nejběžněji používané patří kamenná vlna neboli rockwool, který je běžně používán ve stavebnictví, jako izolant. Až v roce 1969 se začal používat při kultivaci rostlin (Taxier, 2015). Mezi nejrozšířenější hydroponické médium, které je zároveň ekologické a nenáročné, patří keramzit. Keramzit, se vyrábí v rotačních pecích z různých druhů jílu. Dále lze použít také perlit, nebo vermikulit.

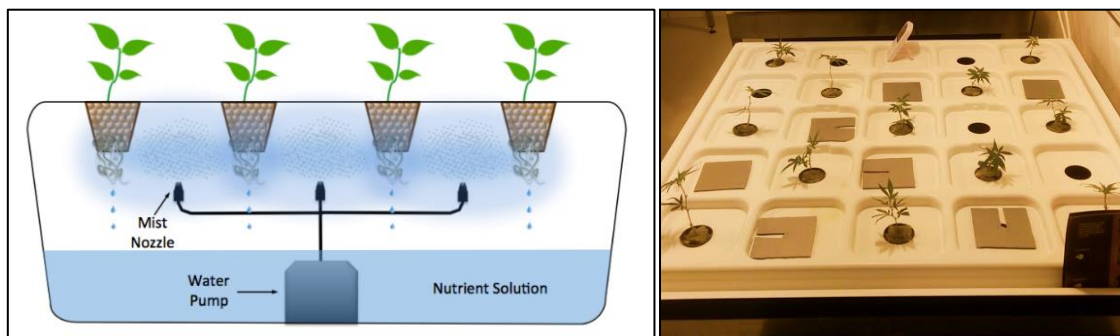
Hlavní druhy efektivních hydroponických systémů (HS):



Obrázek 10 a 11: Hydroponický systém s kapilární závlahou, v praxi je nejčastěji používán jako pěstební medium keramzit (Off-Grid Gorila, 2019; autorka, 2015)



Obrázek 12 a 13: Hydroponický systém Nutrient Film Technique, kořeny rostlin prorůstají periodicky zavlažovanou netkanou textilií, v praxi jsou obvykle nosičem rostlin rockwoolové kostky (Off-Grid Gorila, 2019; autorka, 2015)



Obrázek 14 a 15: Aeroponický systém, volně visící kořeny jsou periodicky zavlažovány tryskami a v praxi je nosičem rostlin obvykle rockwool v plastových košíčkách (Off-Grid Gorila, 2019; autorka, 2015)

3.4.5 Výživa rostlin v indoor podmínkách

Nejdůležitějším procesem ve výživě rostlin je příprava živného roztoku, který svým složením odpovídá vývojové fázi rostliny. Základem kvalitního živného roztoku je jakost vody, její tvrdost, kyselost či zásaditost (pH) a elektrická vodivost (EC). Teprve na základě hodnot těchto parametrů lze přidáním vhodných chemikálií připravit živný roztok vhodný pro výživu konopí. Zároveň je při přípravě roztoku důležité zohlednit, zda jsou rostliny pěstovány v organickém substrátu nebo hydroponicky (Adams, 2012; Taxier, 2015).

Ideální hodnota pH pro kultivaci konopí by se měla pohybovat v rozmezí 5,8 – 6,2. Pokud je hodnota nižší, či vyšší, rostlina není schopná přijmout některé prvky v potřebném množství a hrozí tak podvýživa. Snížit hodnotu pH v roztoku lze přidáním kyseliny dusičné (HNO_3) v růstové fázi a ve fázi květu přidáním kyseliny fosforečné (H_3PO_4). Hydroxidem draselným (KOH) je doporučováno hodnoty pH v roztoku zvyšovat (Adams, 2012; Taxier, 2015).

Dalším ukazatelem je elektrická vodivost (Electric Conductivity) roztoku neboli EC. Jednotky jsou nejčastěji udávány v mS/cm^3 . Naměřené hodnoty ukazují, kolik je v roztoku obsaženo minerálů. Podle hodnoty EC použité vody volí pěstitel množství hnojiv, které použije pro přípravu živného roztoku. Ideální hodnota EC pro kultivaci konopí by se měla pohybovat v rozmezí 0,8 – 2,5 mS/cm^3 . V počátečních fázích vývoje rostlin by EC roztoku nemělo překročit spodní hranici tohoto rozmezí čili 0,8 mS/cm^3 . Dle růstu a vývoje rostlin je EC postupně zvyšováno až na hodnotu 2,5 mS/cm^3 . Je-li EC zálivkové vody bez jakýchkoliv aditiv příliš vysoké (více než 0,6 mS/cm^3), je zapotřebí použít pro její demineralizaci reverzní osmózu (Adams, 2012; Taxier, 2015).

Hlavní živné prvky (makro-prvky) a jejich přijatelné formy jsou dusík (NO_3^- , NH_4^+), fosfor (H_2PO_4^- a HPO_4^{2-}), draslík (K^+), vápník (Ca^{2+}), síra (SO_4^{2-}) a hořčík (Mg^{2+}). Těchto šest prvků je nezbytných pro konopí a rostliny jich pro svůj vývoj potřebují poměrně velké množství. Vedlejší živné prvky (mikro-prvky) a jejich přijatelné formy jsou železo (Fe^{3+} , Fe^{2+}), bór (H_2BO_3^-), molybden (MoO_4^{2-}), mangan (Mn^{2+}), měď (Cu^+ , Cu^{2+}), chlór (Cl^-), zinek (Zn^{2+}) a kobalt (Co^{2+}). Tyto prvky jsou pro konopí také důležité, ale rostliny jich využívají mnohem méně než makro-prvků. Množství a poměr prvků v živném roztoku je dán vývojovou fází rostlin (Adams, 2012). Pro pěstování LK jsou obecně vhodnější anorganické formy hnojiv než organické, které by mohly být potencionálním zdrojem mikrobiální kontaminace živného roztoku. Základní hnojiva lze doplnit různými aditivami v podobě například enzymů nebo rostlinných hormonů (Taxier, 2015).

3.4.6 Ochrana rostlin v indoor podmínkách

Základem pro udržení dobrého zdravotního stavu rostlin je prevence. K hlavním preventivním opatřením při pěstování LK patří zejména pravidelná kontrola porostu, správná diagnostika zdravotních potíží a včasná opatření, ošetřování rostlin odstraněním jejich odumřelých částí a udržování čistoty kultivačního prostředí.

Nejčastější škůdci konopí

Sviluška chmelová (*Tetranychus urticae*)

Svilušky jsou fytofágní roztoči, kteří nejvíce času tráví na spodní straně listů, kde svým bodavě savým ústrojím sají šťávu rostlin. Vzhledem k jejich velikosti (0,5 mm) je v raném stádiu napadení rostlin téměř nemožné je zpozorovat. V místech, kde svilušky porušily pletivo, se objeví bílá tečka, která je patrná i na vrchní straně listů. Při vyšším výskytu si lze všimnout padajících listů, ale i velmi drobných a pevných pavučinek, které tvoří mezi větvemi, nebo jednotlivými rostlinami. Svilušky se množí velmi rychle a při vhodných podmínkách jsou schopny zahubit rostliny do několika týdnů.

Mezi biologické preparáty, které zahubí svilušky s vysokou úspěšností, patří například olej ze semen plodů stromu *Azadirachta indica* A. Juss. (Liauw et al, 2008) nebo nasazení dravého roztoče *Phytoseiulus persimilis* (Opit et al, 2004). Při silném přemnožení svilušky je vhodné použít systémové chemické přípravky na bázi pyretrinu nebo nikotinu. Před jejich aplikací je ale důležité vzít v potaz ochrannou lhůtu prostředku. Rezidua pesticidů mohou v rostlině zůstat i po zpracování a po následné konzumaci člověkem mohou mít negativní vliv na jeho zdraví (Sullivan, 2013).



Obrázek 16: Květenství konopí napadené sviluškou chmelovou (Magazín Legalizace, 2015)

Třásněnky (*Terebrantia*)

Třásněnky jsou hmyz, který taktéž škodí sáním a jejich přítomnost v pěstebním prostoru je možné poznat podle stříbrných a černých (výkaly) teček na listech rostlin. Spolehlivým ukazatelem jsou také modré lepové desky, na které se třásněnky přilepí. Pro jejich odstranění lze použít biologické nebo chemické preparáty jako proti sviluškám (Taxier, 2015; Adams, 2012).



Obrázek 17: Listy konopí napadené Třásněnkami (Growweedeasy, 2016)

Molice skleníková (*Trialeurodes vaporariorum*)

Molice jsou drobný savý hmyz a rostlinám škodí jak dospělí jedinci, tak jejich larvy. Rostliny napadené molicemi mají listy pokryté světlými skvrnami, které jsou způsobeny sáním rostlinných šťáv. Vzniká tak ideální prostředí pro rozvoj virových onemocnění, kterých jsou molice velmi často vektorem. Ochrana proti molicím je shodná jako u svilušek a třásněnek (Taxier, 2015; Adams, 2012).



Obrázek 18: List konopí napadený molicemi (Growmart, 2016)

Nejčastější choroby konopí

Choroby rostlin mohou být způsobeny viry, bakteriemi nebo houbami. Proti virovým a bakteriálním infekcím je konopí velmi odolné, naproti tomu je velice náchylné na onemocnění, jejichž původcem jsou houby.

Botrytida

Toto onemocnění způsobuje plíseň šedá (*Botrytis cinerea*), která může infikovat rostlinu v místě, kde je její pletivo poraněné například neopatrnou manipulací, či zastřížením. Obvykle však toto onemocnění postihuje kvetoucí rostliny, kdy se infekce šíří z vnitřní části květu na povrch, a proto bývá identifikace této plísně v počátku napadení náročná. Náповědou mohou být malé, uschlé lístky v těsné blízkosti květů. Při plném rozvinutí choroby je na napadeném místě patrný bělavý, až šedý povlak, ze kterého se vzduchem šíří výtrusy (Bautista-Baños, 2014). Při ideálních podmínkách je plíseň schopna znehodnotit téměř celou úrodu za několik dnů. Nejefektivnější prevencí je snížení vlhkosti v době květu pod 60 % (Cervantes, 2006). Pokud je napadení většího rozsahu, je třeba použít chemické fungicidní přípravky.



Obrázek 19: Květenství konopí napadené botrytidou (Mandalaseeds, 2016)

Fusarióza

Symptomy této choroby, způsobované houbou *Fusarium oxysporum*, lze poznat podle zpomaleného růstu a drobných změn tkáně ve spodní části rostliny. Nejnáchylnější jsou malé rostliny, zejména řízky. Houba napadá nejdříve kořenový systém rostlin, které jsou ve stresu, například z přílišné zálivky. Kořeny postupně odumírají a stonek začíná těsně nad pěstebním médiem hnědnout. Nakonec celá rostlina uschne. Nejúčinnější prevencí je dodržování čistoty pracovních pomůcek, používání inertního pěstebního média a vyvarování se nadměrné zálivce (Adams, 2012).



Obrázek 20: Konopí napadené fusariózou (Mandalaseeds, 2016)

3.5 Zpracování léčebného konopí

Než se dostane konopí od pěstitele k pacientovy, musí projít velmi náročným zpracovatelským procesem. Legislativa každého státu určuje posklizňové technologie, kterými by mělo být docíleno požadovaných parametrů kvality.

3.5.1 Sklizeň a sušení

Optimální čas sklizně nastává, když rostlinám zhnědne více než 70 % pestíků a obsah žláz v trichomech začne získávat jantarovou barvu. K léčbě je využíváno zejména květenství, které obsahuje nejvíce účinných látek. Je tedy nutné oddělit od květenství přebytečné listy a stonky, což lze ručně pomocí nůžek nebo mechanickým stříhačem.

Sušení je velice významným procesem, který má na kvalitu výsledného produktu zásadní vliv. Rostliny by měly být sušeny pozvolna při co nejnižší teplotě, což by mělo zabránit ztrátám nebo přeměně účinných látek. V sušárně by měla být zajištěna dokonalá cirkulace vzduchu a teplota by neměla překročit 20 °C (Adams, 2012).

3.5.2 Homogenizace a ozařování

Než je konopí naváženo a zabaleno do obalů certifikací určených a pro léčiva, je v některých státech požadováno, aby bylo homogenizované a ozářené radiačním gama zářením. Homogenizace rostlinného materiálu je prováděna z důvodu odlišného obsahu účinných látek v jednotlivých patrech rostliny a ozařování by mělo eliminovat případnou mikrobiální kontaminaci (SAKL, 2017).



Obrázek 21, 22 a 23: Sušárna, usušené květenství konopí, homogenizované květenství konopí (autorka, 2017)

3.6 Biologicky aktivní látky v konopí

Konopí je po chemické stránce velice složitou rostlinou, která obsahuje obrovské množství sloučenin, které jsou zastoupeny téměř ve všech chemických skupinách. V konopí bylo k prosinci 2016 identifikováno celkem 1269 různých sloučenin, z toho 144 fytoKANABINOIDŮ, 150 terpenů a terpenoidů, 50 flavonoidů a flavonoidních glykosidů a celá řada dalších látek, jako jsou aminokyseliny, stilbenoidy, alkaloidy, fenoly, glykosidy, aminy, cukry, uhlovodíky, alkoholy, ketony, estery, kyseliny, mastné kyseliny, vitaminy, a další (Zábranský et al, 2016).

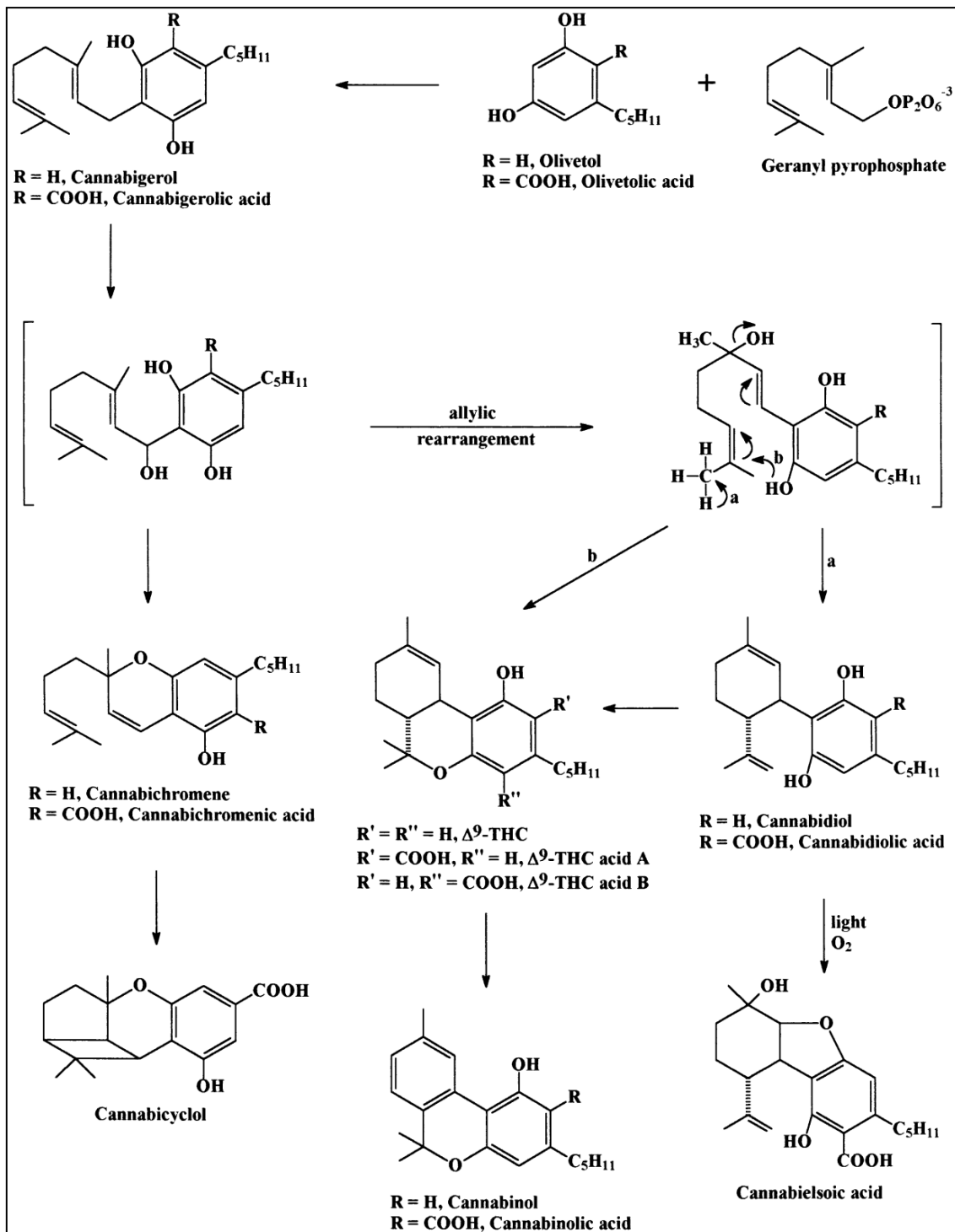
3.6.1 Kanabinoidní sloučeniny v konopí

FytoKANABINOIDY jsou nejvýznamnější a specifickou skupinou biologicky aktivních látek v konopí. Hlavními orgány pro jejich biosyntézu jsou různé typy žláznatých trichomů. Uvnitř jejich subkutikulárního prostoru dochází k hromadění sekretu podobnému pryskyřici, který obsahuje různé množství fytoKANABINOIDŮ ale i dalších významných metabolitů, například různých lipidů, vosků, fenylypropanoidů, flavonoidů, methylketonů a terpenoidů (Champagne et Boutry, 2016). Z chemického hlediska jsou fytoKANABINOIDY C₂₁ tricyklické terpenoidy, které jsou rozpustné v tucích, alkoholech a jiných nepolárních rozpouštědlech (Thakur et al, 2005).

Sloučeniny strukturou podobné kanabinoidům byly nalezeny i v jiných rostlinách, jako jsou například *Desmodium canum* (Peč et Dušek, 2009), *Echinacea purpurea*, *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida*, *Acmella oleracea* nebo *Helichrysum umbraculigerum* (Šulcová, 2015).

Mezi nejvýznamnější fytoKANABINOIDY v konopí patří Δ^9 -trans-tetrahydroKANABINOL (Δ^9 -THC), Δ^8 -trans-tetrahydroKANABINOL (Δ^8 -THC), KANABIDIOL (CBD), KANABINOL (CBN), KANABIGEROL (CBG), KANABICHROMEN (CBC), KANABIELSOIN (CBE), KANABIDIVARIN (CBDV) a tetrahydroKANABIVARIN (THCV), KANABICYKLOL (CBL), KANABINODIOL (CBND), KANABITRIOL (CBT) a další. V konopí jsou kanabinoidy syntetizovány v nestabilní formě karboxylových kyselin, které se v rostlině nachází v daleko vyšších koncentracích oproti neutrálním kanabinoidům (Mechoulam et Ben-Shabat, 1999). Tyto kyseliny nemají psychoaktivní účinek a některé z nich působí protizánětlivě. Jako první je v rostlině tvořena kyselina KANABIGEROLOVÁ (CBGA), která se následnou oxidací a cyklizací přemění na k. KANABICHROMENOVOU (CBCA), k. KANABIDILOVOU (CBDA) a k. tetrahydroKANABINOLOVOU (THCA), (Mechoulam et Hanuš, 2000; Holland et al, 2014; Wohlfarth et al, 2011). Aby se z kyselin staly aktivní neboli neutrální kanabinoidy, musí projít dekarboxylací (Sirikantaramas et al, 2005). Proces dekarboxylace

probíhá při teplotách od 130 do 180 °C, což je mimo jiné hlavním důvodem, proč je konopí nejčastěji užíváno formou kouření. Z THCA se odštěpením karboxylové skupiny (COOH) stává Δ^9 -THC, který má na rozdíl od své kyselinové formy psychoaktivní povahu. V omezené míře probíhá dekarboxylace také působením vzduchu, světla a teploty při skladování (Thakur et al, 2005).



Obrázek 24: Hlavní fytokanabinoidy a jejich předpokládaná biogeneze (Mechoulam et Hanuš, 2000)

Δ^9 -THC

Δ^9 -THC je hlavní psychoaktivní složkou v konopí a vyskytuje se v různém množství téměř ve všech jeho genotypech (Dupal, 1994). Vzniká dekarboxylací THCA a je nestálý na světle. Při přímém osvětlení a špatném skladování podléhá Δ^9 -THC oxidaci na CBN (Razdan et al, 1972). Maximální obsah Δ^9 -THC získaný dekarboxylací THCA při simulaci kouření může překročit třicetiprocentní přeměny, ale nelze dosáhnout 100% přeměny THCA na Δ^9 -THC (Dussy et al, 2005).

Mechanismus jak terapeutického, tak psychoaktivního účinku byl plně objasněn v roce 1988, kdy William Devane objevil v mozku potkanů kanabinoidní receptory, na které se Δ^9 -THC váže (viz kapitola 3.7.1).

Psychoaktivní efekty Δ^9 -THC závisí na velikosti dávky a způsobu aplikace (Miovský et al, 2008). Psychoaktivně působící dávka činí od 4–8 mg Δ^9 -THC. Letální dávka při perorálním podáváním u krysu pohybuje okolo 600 mg/kg, tedy přibližně 6000× větší, než dávka působící na člověka. Není ovšem znám jediný případ úmrtí předávkováním konopí. Po požití konopí, kdy dávkování závisí na individuálních dispozicích a metabolických funkcích lidského organismu lze očekávat: „Asi tři hodiny trvající stav omámení, který je charakteristický pocitem oddělenosti, která umožňuje meditativní ponoření nebo oddání sensorickým stimulům. Všeobecně nedochází k optickým a akustickým halucinacím, spíše je zesílena pocitová intenzita při poslechu hudby, pozorování obrazů, při jídle a pití a sexuální aktivitě.“ (Rätsch, 1992).

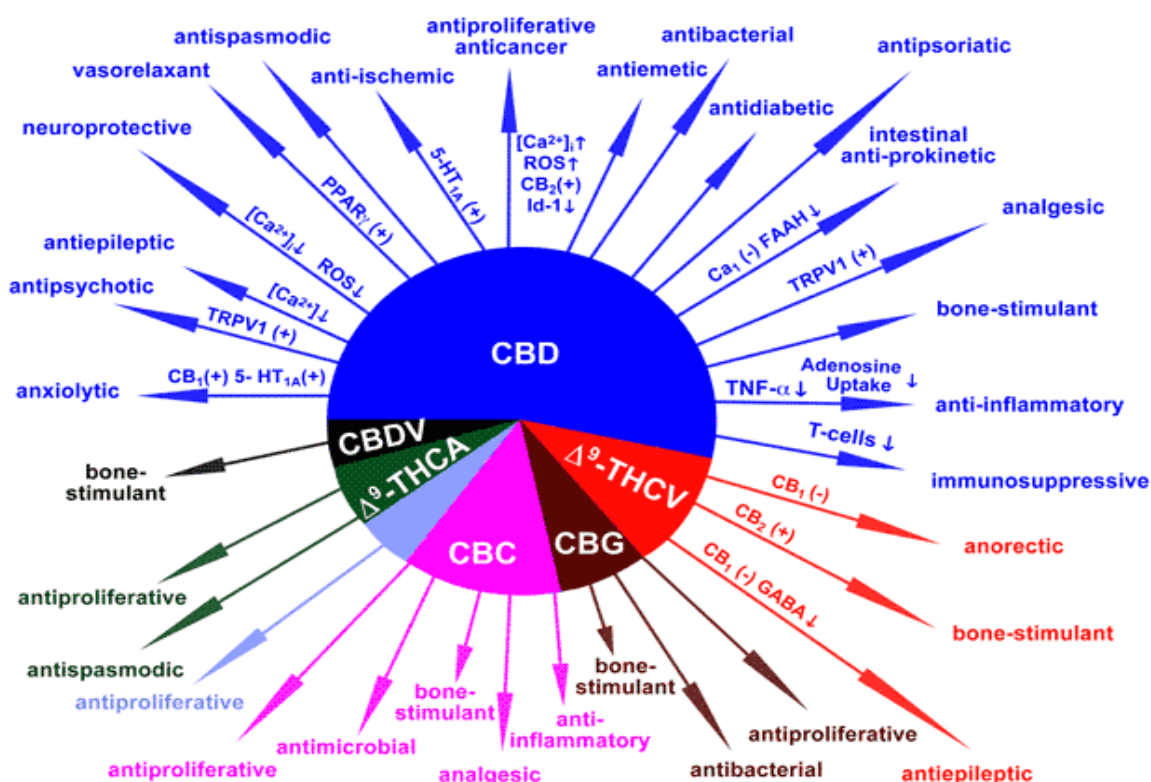
Rozsah léčebných účinků Δ^9 -THC je velmi široký, z nichž jeden z nejdůležitějších je tlumení bolesti, nevolnosti a zvracení u pacientů trpících onkologickým onemocněním (Sallan et al, 1975). Dále snižuje svalovou slabost a spasticitu spojenou s roztroušenou sklerózou, ataxii, mírní bolesti a působí příznivě na bronchodilataci u astmatiků (Varvel et al, 2005; Pertwee, 2007).

CBD

Molekuly CBD a Δ^9 -THC jsou si strukturálně velmi podobné. CBD je modifikátorem účinků Δ^9 -THC (Mechoulam, 2012). Jako jeho antagonistu působí například zmírňováním úzkosti a psychotických stavů, které může Δ^9 -THC u některých pacientů vyvolat (Morgan et al, 2010). Naproti tomu při chronické neuropatické bolesti má jejich kombinace vyšší aktivitu, než samotné Δ^9 -THC (Russo and Guy, 2006). U těchto dvou kanabinoidů popsal Russo (2011) ve své studii synergismus také s některými terpenoidy.

CBD není schopen se navázat na endokanabinoidní CB1 receptory a aktivovat je, jako tomu je u molekuly Δ^9 -THC, proto CBD nevykazuje psychoaktivní účinky (Burstein, 2015) a terapeuticky působí na organismus jinými mechanismy. Je známo, že CBD vykazuje silné protizánětlivé, antioxidační a imunomodulační vlastnosti (Johnson et al, 2010). Jeho obsah v konopí je proměnlivý v závislosti na genotypu, ale také v závislosti na vývojové fázi rostliny.

Ostatní významné kanabinoidy



Obrázek 25: Ne-psychoaktivní fytokanabinoidy a jejich terapeutické účinky (Izzo et al, 2009).

Ve studii Flores-Sanchez et al (2009) byl na buněčných kulturách konopí sledován vliv biotických (kmeny hub *Pythium aphanidematum* a *Botrytis cinerea*) a abiotických (UV záření) faktorů na množství kanabinoidů. Bylo zjištěno, že po ozařování rostlin konopí UV světlem a působením biotického stresu prostřednictvím mycelia výše zmíněných kmenů hub, nedošlo ke stimulaci tvorby sekundárních metabolitů a byla pozorována i nízká exprese genu THCA-syntázy. Exprese genu tohoto enzymu je ovlivňována spíše vývojovou a růstovou fází žláznatých trichomů rostlin konopí.

3.6.2 Terpenické sloučeniny

Těkavé terpenické sloučeniny určují složení silice obsažené v konopí a jsou základem jeho chuti a vůně (Grotenhermen et Russo, 2002). Senzorické vlastnosti produktu jsou významným parametrem kvality a jedním z hlavních faktorů, který ve výběru vhodného genotypu či jeho producenta, významně ovlivňuje uživatele aplikující konopí formou kouření.

Složení silice a její obsah v rostlině jsou více či méně ovlivňovány genotypem, pěstebními podmínkami a obdobím sklizně (Burt, 2004). Periodicky se tyto hodnoty mění také v průběhu vegetace i během dne (Bulánková, 2005). Z chemického hlediska můžeme komponenty silice rozdělit na tři hlavní skupiny, první skupinu tvoří terpeny a terpenoidy, druhou skupinu aromatické sloučeniny derivátů fenylypropanu a třetí skupinu tvoří dusíkaté a siriné sloučeniny, které jsou přítomny zejména u čeledí *Brassicaceae* a *Alliaceae* (Bakkali et al, 2008).

V silici konopí bylo identifikováno mnoho různých terpenoidů, které patří zejména do skupin monoterpenů a seskviterpenoidů. Terpenoidy jsou stejně jako kanabinoidy akumulovány zejména ve žláznatých trichomech samičích květenství (Fischedick et al, 2010) a některé z nich působí terapeuticky na lidský organismus lépe v synergii s kanabinoidy než samostatně a naopak (Russo, 2011). Mezi nejvíce zastoupené monoterpeny v konopné silici patří: α -pinen, β -pinen, β -myrcen, α -terpinen, limonen, linalol, β -ocimen, terpinolen a další. Ze skupiny seskviterpenických látek je charakteristickým pro konopí zejména karyofylen oxid. Slouží jako indikátor speciálně vycvičeným psům k identifikaci konopí jako narkotika, jelikož psychoaktivní Δ^9 -THC a jeho deriváty nejsou psi schopni cítit natož identifikovat. K dalším seskviterpenům přítomným v konopí patří β -karyofylen, α -humulen, α -kurkumen, guaiol, α -selinen, nerolidol, α -guaien, a další (Rätsch, 1994; Flores-Sanches et Verpoorte, 2007; Peč et Dušek, 2009; Casano et al, 2011; Russo, 2017).

3.6.3 Ostatní významné sloučeniny

Flavonoidy

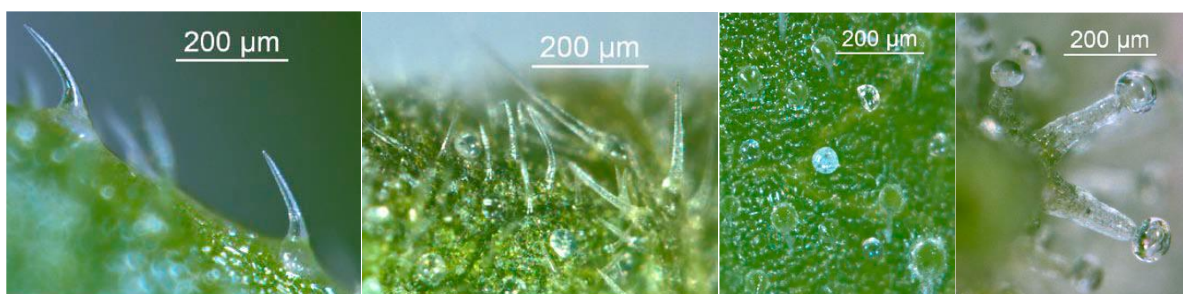
Flavonoidy mají mnoho významných funkcí v biochemii, fyziologii i ekologii rostlin a jsou důležité jak pro udržení celkové homeostaze, tak pro lidskou výživu, tak pro výživu zvířat. Jsou to přírodní antioxidanty, které chrání tkáň proti poškození volnými radikály. Mezi hlavní flavonoidy v konopí patří zejména methylované isoprenoidní flavony kanaflavin A, B a C. Dalšími významnými flavonoidy jsou například orientin, vitexoin, isointexin, apigenin, luteolin, kverticin a kaempferol (Flores-Sanches et Verpoorte, 2008; Peč et Dušek, 2009).

Stilbenoidy

V konopí bylo identifikováno devatenáct stilbenoidů (Turner et al, 1980, Ross et ElSohly 1995). Stilbenoidy jsou fenolické sloučeniny široce rozšířené v rostlinné říši. Jejich funkce v rostlinách jsou konstitutivní a indukční obranné mechanismy (inhibitory růstu a faktory dormance u rostlin). Často jsou stilbenoidy složkou jádrového dřeva nebo kořenů a mají antifungální, antibakteriální a insekticidní účinky. Mezi hlavní stilbenoidy izolované zejména z kořene konopí, je řazen například dihydroresveratrol, kanipren, kanabistilben a další (Flores-Sanches et Verpoorte, 2008).

Alkaloidy

První alkaloid identifikovaný v konopí je kanabisativin, který byl izolován roku 1975 v Mississippi z kořenů. Přítomnost této látky byla potvrzena také v listech konopí. Druhý alkaloid, nazvaný anhydrokanabisativin, byl nalezen u rostlinných vzorků konopí z 15 různých zeměpisných lokalit (Mechoulam et Hanuš, 2000).



Obrázek 26: Příklady konopných trichomů (zleva): cystolitické, necystolitické, přisedlé žláznaté a stopkaté žláznaté (UNODC, 2009).

3.6.4 Extrakce hlavních účinných látek

Pro extrakci biologicky aktivních látek z konopí jsou používány nejrůznější metody, extraktory a chemická rozpouštědla či plyny. Nejstarší metodou je macerace konopí v živočišných tucích, rostlinných olejích a ethanolu. V dnešní době je průmyslově používanou metodou například superkritická fluidní extrakce za použití různých plynů (CO₂, butan, dimethyl ether a další). Dále lze účinné látky extrahovat pomocí vakuové odparky nebo Soxhletova přístroje za použití různých nepolárních rozpouštědel (ethanol, hexan, petroleum ether a další). Pro extrakci silice je běžně používanou metodou destilace (Ruano et Sostoa, 2016).

Tabulka 5: Extrakční rozpouštědla a jejich stupeň toxicity na lidský organismus (Ruano et Sostoa, 2016; Sigma Aldrich.cz)

Název	Kvalita	Hořlavost	Dostupnost	Bod varu (°C)*	Toxicita**
Chloroform	vyšoká	vyšoká	nížká	61,2	1
Petroleum ether	vyšoká	vyšoká	nížká	30-80	2
Benzen	vyšoká	vyšoká	nížká	80,1	1
Ethanol	střední	střední	vyšoká	78,37	3
Methanol	střední	střední	vyšoká	64,7	2
Isopropanol	střední	střední	vyšoká	82,6	3
Methylenchlorid	vyšoká	nehořlavý	střední	39,6	2
Hexan	vyšoká	střední	nížká	68	2
Butan	vyšoká	vyšoká	vyšoká	-0,5	2

*Bod varu rozpouštědla je teplota (°C), při které se kapalina mění v páru.

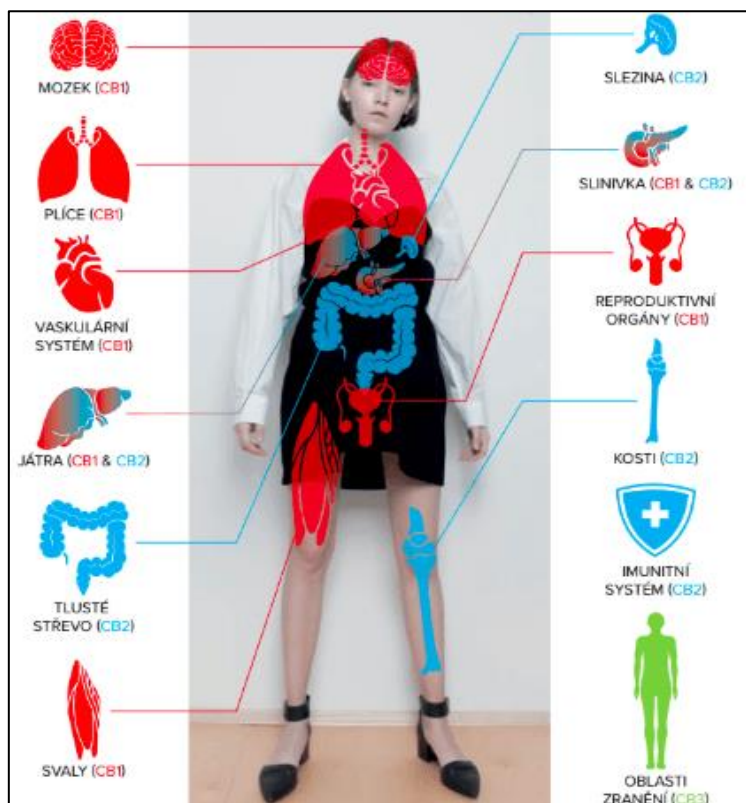
**Stupně toxicity jsou označeny 1-3 (1 – naprosto nepřijatelná pro výrobu extraktů určených k lidské spotřebě, 2 – nevhodná pro výrobu extraktů určených k lidské spotřebě, 3 – vhodná pro výrobu extraktů určených k lidské spotřebě).

3.7 Léčebné účinky konopí

V poslední době je věnována pozornost takzvanému „Entourage Effect,“ neboli léčebným účinkům komplexního spektra účinných látek v rostlinách jednotlivých genotypů konopí. Zatímco další klinický výzkum izolovaných endo-, fyto-, a syntetických kanabinoidů používá standardní designy experimentů, studie účinků celé rostliny si velmi pravděpodobně vyžádá změnu výzkumného paradigmatu tak, aby zohledňovala komplexní spektrum účinných látek a to jak pro symptomatickou, tak pro kauzální léčbu (Zábranský et al, 2016).

Každá účinná látka či jejich skupiny působí v organismu jiným mechanismem účinku, obdobně jako účinné látky v jiných rostlinách. Konopí má však tu výhodu, že obsahuje fytokanabinoidy, které v organismu působí na principu ligandu a receptoru tzv. „principu zámku a klíče“ (Hanuš, 2009).

Teprve všechny tři objevy společně – Δ^9 -THC, endokanabinoidní receptory a anandamid, daly vědcům možnost alespoň částečně pochopit mechanismus účinku konopí na lidský organismus ve zdraví i v nemoci (Hanuš, 2012).



Obrázek 27: Endokanabinoidní receptory CB1, CB2 a jejich rozložení v lidském organismu (Časopis Roots, 2019)

3.7.1 Endokanabinoidní systém

Endokanabinoidní systém v organismu je tvořen endokanabinoidními receptory a jejich endogenními ligandy tzv. endokanabinoidy, které jsou doprovázeny proteiny zodpovědnými za jejich biosyntézu a degradaci (Matsuda et al, 1990).

Endokanabinoidní receptory

První endokanabinoidní receptor (ER) byl objeven roku 1988 v mozku potkanů, byl označen jako centrální kanabinoidní receptor a nazván CB1 (Devane et al, 1988). Tento receptor byl na presynaptických nervových zakončeních identifikován nejprve v centrální nervové soustavě (CNS) organismu, a později v některých oblastech mozku především v hipokampu, bazálních gangliích, mozkové kůře a mozečku (Hanuš, 2012). Dále jej lze najít na periférii adipocytů, endotelových buněk, hepatocytů, v gastrointestinálním traktu a zasahují také do regulace aktivity osteoklastů (Havrdová et Nováková, 2012). Hlavní aktivní látka v konopí Δ^9 -THC projevuje své účinky vazbou na CB1 receptory (Hanuš, 2012), jejichž heterogenní rozmístění působí po aktivaci CB1 v místech jejich lokalizace (Mechoulam et Hanuš, 2000). Jsou-li receptory CB1 příslušným ligandem aktivovány, modifikují smyslové vnímání, paměť, emoční a fyzickou homeostázu, vnímání bolesti, pohyb, posturální kontrolu, a další funkce mozku (Marco et Viveros, 2009).

V roce 1993 byl objeven druhý typ ER, označen jako periferní kanabinoidní receptor a nazván CB2. Nejprve byly ER CB2 identifikovány na buňkách imunitního systému (Benito et al, 2003), mezi které patří granulocyty, makrofágy, monocyty, polymorfonukleáry, buňky thymu a patrových mandlí (Havrdová et Nováková, 2012). Později byly ER CB2 objeveny také na buňkách CNS jako jsou mikroglie, astrocyty a některé neuronové subpopulace. Zajímavým zjištěním také je, že jejich množství bylo vyšší v mozku poškozeném různými cytotoxickými zdroji, naproti jejich počtu v nepoškozeném mozku (Deiana et al, 2016).

Tyto dva ER patří ke skupině receptorů spojených s G-proteinem (Devane et al, 1988), jejichž sekundární strukturou je sedm transmembránových alfa-helixů. G-proteiny jsou guanosintrifosfáty fosfohydrolázy, které se podílejí na nitrobuněčné signalizaci. Přenos signálu do buňky se děje pomocí receptorů na její vnější straně, které jsou aktivovány příslušným ligandem. Po navázání ligandu, dojde na k aktivaci receptorů a odloučení G-proteinu (Hořejší et Říhová, 2002), což způsobí významné změny cytosolové domény a vyvolá tím následnou reakci organismu (Howlett et al, 2002).

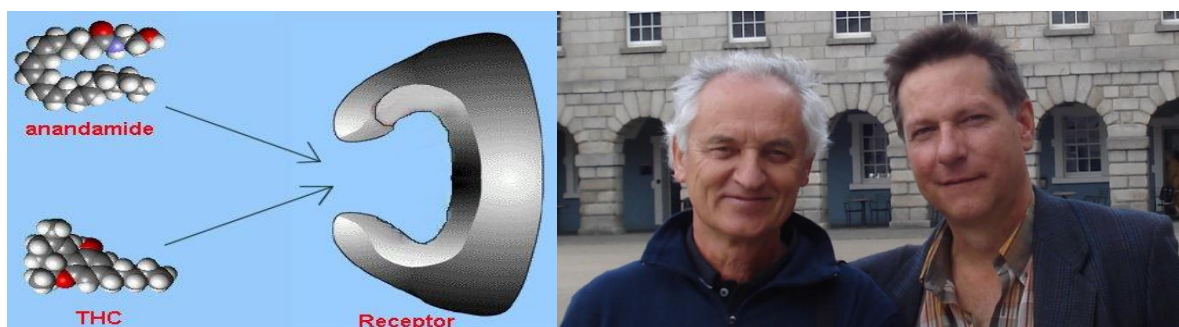
Dále je popisována existence receptoru CB3 s označením GRP55, u kterého je také předpokládán vztah k řadě fyziologických procesů (Peč, 2013)

Endokanabinoidy

Identifikace ER v mozku vedla různé vědecké týmy k úvahám o existenci jejich příslušných endogenních ligandů. Významným dnem ve výzkumu endokanabinoidů se stal 13. července 1992, když Lumír Ondřej Hanuš a William Devane objevili v mozku prasat N-arachidonylethanolamin (AEA). Tento endokanabinoid nazvali anandamid, kdy „Ananda“ znamená v sanskrtu „vnitřní štěstí“ (Hanuš, 2009). Anandamid je vysoce lipofilní sloučenina náchylná k oxidaci a hydrolýze a její afinita k receptoru CB1 je mírná a k CB2 je velmi nízká.

Druhým objeveným endokanabinoidem je 2-arachidonoylglycerol (2-AG), který byl izolován ze střevní a mozkové tkáně v koncentraci 170× vyšší než anandamid. Při porovnávání Δ^9 -THC, anandamidu a 2-AG bylo zjištěno, že mají na hlavním řetězci polární skupinu, zatímco postranní řetězec nesoucí *n*-pentylovou skupinu je hydrofobní. Ligandy z obou tříd mají některá vazebná místa společná. Lipofilní postranní řetězec hraje významnou roli při afinitě ligandů a jejich selektivitě k ER. Například zkrácení či prodloužení délky *n*-pentylové skupiny postranního řetězce Δ^9 -THC a endokanabinoidů vede k výrazným změnám těchto vlastností, a tím i k jejich farmakologické potenci (Thakur et al, 2005).

Mezi další endogenní kanabinoidy patří například N-arachidonoyl-dopamin (NADA), noladin (2-arachidonoylglyceryl ether), virodhamin (O-arachidonoyl-ethanolamin) nebo N-arachidonoyl serin (ARA-S), (Šulcová, 2015).



Obrázek 28 a 29: „Princip zámku a klíče“ a jeho objevitelé doc. Lumír Ondřej Hanuš, (vlevo) a Dr. William Anthony Devane (vpravo), (obrázek a foto z prezentace L. O. Hanuše, která se konala v květnu 2013 na ČZU v Praze a pro FAPPZ byla 1. impulzem začít se věnovat výzkumu léčebného konopí.)

3.7.2 Nejčastější indikace, na které je konopí předepisováno

Chronická bolest, vomitus a nauzea

Chronická bolest je mimořádně rozšířeným patologickým příznakem a je odhadováno, že jí v průběhu života trpí průměrně 30 % světové populace. Většina analgetik má ale silné vedlejší účinky, zejména opiáty, které jsou nejčastěji používány pro zvládnání středně těžké a těžké bolesti. Užívání opiátů přináší významná rizika včetně smrtelného předávkování a také mají velmi silný závislostní potenciál. Endokanabinoidní systém je jedním z klíčových regulátorů bolesti, působící ve všech etážích její dráhy. Neurální signalizace receptory CB1 i CB2 má klíčovou roli ve vnímání bolesti a existuje značné množství preklinických studií na zvířecích modelech, které potvrzují, že vhodná modulace endokanabinoidního systému může bolest snižovat. Chronická a neutišitelná bolest je symptomem, na který je konopí předepisováno nejčastěji. V České Republice byl prvním předepisujícím lékařem MUDr. Radovan Hřib z Centra pro léčbu bolesti v Nemocnici u Sv. Anny Brno (Hřib, 2019).

Příznivé účinky konopí – zejména kouřeného, ale i užívaného jinými způsoby – pro tlumení nevolnosti a zvracení jsou známy již po staletí. Zřejmě nejúčinnějšími antiemetiky jsou selektivní antagonisté serotoninových receptorů, ty ale v mnoha zemích nejsou pro dané indikace považovány za lék první volby, především pro své nežádoucí vedlejší účinky. Význam léčebného konopí a kanabinoidů při léčbě těchto namnoze život ohrožujících stavů byl potvrzen objevením mechanismu, při kterém především CBD a Δ^9 -THC, ale i CBG a některé další fytoKANABINOIDY, potlačují nauzeu působením na receptory CB2 (Zábranský et al, 2016).

Neurologická onemocnění

Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba je neurodegenerativním a progresivním onemocněním mozku, při kterém u člověka dochází k postupné demenci. Degenerativní změny postupně působí rozpad nervových vláken a nervových buněk. Hlavními symptomy Alzheimerovy choroby jsou potíže s krátkodobou pamětí, agresivní chování, deprese, ztráta chuti k jídlu a někdy i problémy s chůzí (Rätsch, 2012). V medicínské literatuře existují důkazy o tom, že konopí může u pacientů s Alzheimerovou chorobou zpomalovat průběh tohoto onemocnění (Eubanks et al, 2006).

Roztroušená skleróza (RS)

Roztroušená skleróza je autoimunitní onemocnění CNS, v jehož průběhu dochází k napadání a ničení myelinu (ochranná vrstva nervových vláken) v neuronech a dendritech vlastním imunitním systémem. Postupem času dochází k inhibici činnosti neurotransmiterů a pacient začíná trpět únavovým syndromem, křečemi, třesem a inkontinencí. Tyto příznaky mají výrazný negativní dopad na kvalitu života nemocných (Pertwee, 2007). Bylo zjištěno, že po užití Δ^9 -THC docházelo u pacientů ke zřetelným pozitivním změnám v oblasti poruch vyměšování (Grotenhermen et Morgan, 2009). Dále Pertwee (2007) uvádí, že byla potvrzena schopnost kanabinoidů mírnit projevy RS a zpomalovat progresi tohoto onemocnění. Tento fakt potvrzují i svědectví jednotlivých pacientů, stejně jako nové poznatky o působení fytkanabinoidů prostřednictvím ER v lidském organismu.

Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba je degenerativním onemocněním CNS, Symptomy se nejčastěji projevují svalovou ztuhlostí, klidovým třesem, zpomalením nebo dokonce naprostým ustáním pohybů a depresemi (Miovský et al, 2008). Konopí u pacientů snižuje intenzitu třesů a tím zlepšuje stav nemocného (Kubánek, 2009), to však lze pozorovat až po jeho dlouhodobém užívání, zhruba po dvou měsících (Grotenhermen et Morgan, 2009).

Onkologická onemocnění

Protinádorové vlastnosti kanabinoidů byly zdokumentovány u různých typů nádorů, jako jsou gliomy, melanomy, lymfomy či karcinomy. Bylo zjištěno, že Δ^9 -THC narušuje aktivaci ER buněčnou proliferaci. Inhibuje pro-nádorovou protein kinázu B, zhoršuje angiogenezi a následně spustí apoptotickou kaskádu (Beukes et al, 2014).

Rakovina prsu

Rakovina prsu je nejčastějším onkologickým onemocněním a druhou nejčastější příčinou úmrtí souvisejících s rakovinou u žen. Pomocí metod *in vitro* se ukázalo, že CBD byl nejúčinnějším inhibitorem buněčného růstu rakovinných buněk. Naproti tomu pomocí *in vivo* metod bylo zjištěno, že aktivací CB1 receptorů Δ^9 -THC je zpomalován růst buněk karcinomu prsu a jeho metastáz. Z toho lze usuzovat, že konopí s vhodným poměrem Δ^9 -THC a CBD by mohly významně přispět k léčbě tohoto nádorového onemocnění (Nikan et al, 2016).

Rakovina prostaty

Rakovina prostaty je nejčastějším onkologickým onemocněním u mužů. Studie *in vitro* potvrzují, že fytoKANABINOIDY inhibují proliferaci buněčných linií karcinomu prostaty (Nikan et al, 2016).

Rakovina tlustého střeva

Kolorektální adenokarcinom celosvětově patří také na přední místa zhoubných onemocnění (Adam et al, 2011) a vzhledem ke vzrůstajícímu počtu obézních lidí, je vysoká pravděpodobnost, že se výskyt tohoto onemocnění bude stále zvyšovat (Patsos et al, 2005). Na světě je to třetí nejčastější maligní nádor a čtvrtý nejčastější typ rakoviny způsobující úmrtí (Terzić et al, 2010). Je známo, že syntetické fytoKANABINOIDY i endokanabinoidy mohou inhibovat růst rakovinných buněk v tlustém střevě různým způsobem, zahrnujícím i přímou aktivaci CB1 a CB2 receptorů (Cianchi et al, 2008; Izzo et Camilleri, 2009; Ligresti et al, 2003). Ve studii Capasso et al. (2011) bylo prokázáno, že extrakt s vysokým obsahem CBD (CBD BDS) redukuje proliferaci buněk kolorektálního karcinomu (DLD-1 a HCT116).

Rakovina jater

Dalším nejčastějším nádorovým onemocněním na světě způsobující úmrtí, je hepatocelulární karcinom (Yang et Roberts, 2010) a současná léčba je aplikována pouze v rané fázi nemoci. Zahrnuje resekci nádoru, jaterní transplantaci, chemoembolizaci a podání sorafenibu (Josephs et Ross, 2010). Endokanabinoidní systém je stěžejním regulátorem jak při akutním, tak chronickém poškození jater (Mallat et al, 2013). Nedávný výzkum ukázal, že syntetický kanabinoid WIN-55 212-2 má schopnost inhibovat růst karcinomu jater (Giuliano et al, 2009; Pellerito et al, 2010). Ve studii Vara et al (2011) bylo zjištěno, že THC (agonista CB1 a CB2 receptorů) a JWH-015 (selektivní agonista CB2) snižují životaschopnost lidských karcinomů jater buněčné linie Hep-G2 (hepatocelulární karcinom jater buněčné linie) a Huh-7 (buňky hepatocelulárního karcinomu).

Rakovina plic

Bylo prokázáno, že Δ^9 -THC zmenšuje velikost nádoru, snižuje počet metastáz a tlumí buněčnou proliferaci u adenokarcinomu plic. Potlačuje i uvolňování vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF), což je klíčový mediátor angiogeneze (Nikan et al, 2016).

Rakovina slinivky

Rakovina slinivky patří mezi nejagresivnější druhy rakoviny. Nejčastějším typem rakoviny slinivky břišní je duktální adenokarcinom, který vychází z buněk výstelky pankreatických kanálků. Bylo zjištěno, že kanabinoidy indukují apoptózu pankreatické nádorové buněčné linie a stejně tak mají silný inhibiční účinek na šíření metastáz (Nikan et al, 2016).

Rakovina kostí

Nádory kostí jsou rozděleny na primární a sekundární. Primární typ je vzácný a převažují u něj kostní metastázy z jiných primárních nádorů. Bylo pozorováno, že anandamid inhibuje zánět a tlumí bolest. Inhibuje i receptor epidermálního růstového faktoru a tím preventivně působí na útlum angiogeneze, invazi a proliferaci nádorových buněčných linií. Endokanabinoidy a modulátory endokanabinoidního systému zeslabují bolesti, které nádorové onemocnění vyvolává (Nikan et al, 2016).

Lymfom

U lymfomu jsou rozlišovány dva typy, Hodgkinův lymfom a non-Hodgkinův lymfom. U myši léčba lymfomů pomocí CBD významně snížila objem nádorů a zároveň zvýšila úroveň jejich apoptózy (Nikan et al, 2016).

Gliom

Gliom se řadí mezi velmi agresivní nádory CNS s vysokou odolností vůči konvenční léčbě v podobě chemoterapií. Studie *in vivo* i *in vitro* potvrdily, že CBD inhibuje růst různých lidských buněčných linií gliomů v závislosti na jeho dávce. Další výsledky ukazují, že Δ^9 -THC stimuluje ER, a tak podporuje autofagii gliomových buněk (Nikan et al, 2016).

Ostatní onemocnění

Mnohé studie potvrdily, že konopí má své opodstatnění také při léčbě kožních potíží, zánětů, glaukomu, epilepsie, při léčbě Crohnovy choroby a ulcerózních kolitid, Gill de la Tourette syndromu, cukrovky, poruch spánku, posttraumatické stresové poruchy, hyperaktivity, při onemocněních pohybového aparátu, autismu a dalších. Naproti tomu je známo, že při srdečních potížích, poruchách funkce jater a psychiatrických poruchách jako je například maniodepresivní psychóza či schizofrenie, je léčba konopím s vyšším obsahem Δ^9 -THC naprosto nevhodná (Hanuš, 2012).



Obrázek 30: Objevitel Δ^9 -THC Profesor Raphael Mechoulam, Ph.D. (vlevo), Ing. Anežka Janatová a doc. RNDr. Lumír Ondřej Hanuš, Dr.Sc., Dr. h. c. mult. (vpravo), (ProfiPress, 2015)

4 Materiál a metody

4.1 Pěstování rostlin léčebného konopí

4.1.1 Výchozí materiál

Genotypy použité v této studii (Tabulka 6) byly vybrány na základě několika kritérií. Hlavním kritériem byla aktuální platná legislativa pro licencované producenty, aby bylo možné aplikovat výsledky této studie v praxi. Tehdejší legislativa (Vyhláška 221/2013 Sb.) umožňovala pouze čtyři chemovary, z nichž Státní agenturou pro konopí pro léčebné použití byl po pěstiteli požadován pouze jeden a to 19 % Δ^9 -THC a do 1 % CBD. Dalším kritériem pro výběr genotypů, byl rok dokončení jejich šlechtění, neboť lze předpokládat, že čím je genotyp starší, tím stabilnější bude obsah jeho účinných látek.



Obrázek 31 a 32: Rozdíly mezi jednotlivými genotypy a jejich senzorní analýza na Katedře rostlinné výroby FAPPZ ČZU v Praze, (zleva) Andrea Bernardos, Ph.D., Ing. Jitka Nováková, Ph.D. a Ing. Anežka Janatová (autorka 2016; Božik 2015).

Tabulka 6: Vybrané genotypy konopí a jejich charakteristika

Genotyp	Šlechtitel	Rodokmen	Sat/Ind (%)	Vegetace	Indikace
Conspiracy Kush	TGA Subcool Seed	Obama Kush x Space Queen	30/70	55-60 dní	Relaxační, nespavost, stres, bolest, únava, deprese
Nurse Jackie	TGA Subcool Seed	Medicine Woman x Jack the Ripper	85/15	8-9 týdnů	Zánět, oční tlak, bolest hlavy, stres, nespavost
Jillybean	TGA Subcool Seed	Unknown Orange Skunk x Romulan x Cindy 99 BCGA	60/40	8 týdnů	Stres, deprese, bolest, únava, nevolnost
Nordle	Mr Nice Seedbank	Afgan x Skunk	20/80	8-10 týdnů	Bolest, svalové křeče, relaxační efekt, zánět, stres, únava
Jack Cleaner 2	TGA Subcool Seed	Pluton x Purple Haze x Lamsbread x NL x Jack Herer x Jack The Ripper Male	80/20	8-10 týdnů	Deprese, únava, oční tlak, stres, bolest
Jack Skellington	TGA Subcool Seed	Cindy 99 x G13 x Jacks Cleaner x Space Queen	70/30	8 týdnů	Stres, deprese, bolest, nevolnost, nechutenství
National Health Service	Mr Nice Seedbank	Northern Lights 5/Haze x Skunk	Z větší části sativa	8-10 týdnů	Zánět, oční tlak, bolest hlavy, stres, nespavost

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

4.1.2 Pěstební podmínky

V kultivační místnosti (dále jen pěstírna) o objemu 10 m³, bylo po šest pěstebních cyklů kultivováno na 2 m² sedm genotypů konopí (*Cannabis sativa* L.). Současně byly v odděleném boxu (1 × 1 m²) této místnosti udržovány i jejich klony. Nosičem rostlin, kapilárně zavlažovaných, byl substrát Dědova Hlína (Vojtěch Karban, ČR), směs rašeliny a zeolitu. Teplota v pěstírně byla regulována mezi 22–30 °C pomocí odtahového ventilátoru 1000 m³/h (TORIN, Švýcarsko). Vlhkost vzduchu byla regulována ručně dle vegetační fáze rostlin (40–70 %) ultrazvukovým zvlhčovačem (Cronwel Electronics, Velká Británie). Pro vegetativní fázi byly použity výbojky 400 W Master HPI-T Plus (Philips, Nizozemsko), které mají modré spektrum absorbance (korelační chromatická teplota 4500 K) a pro generativní fázi byly použity výbojky XTREME OUTPUT 400 W (GIB-lighting, Německo) vyzářující spektrum červených barev (korelační chromatická teplota 2000 K).

4.1.3 Výživa rostlin

Tabulka 7: Dávkování anorganických nutrietů a organických aditiv (Advanced Hydroponics s.r.o., Holandsko).

Týden	Osvětlení (den/noc)	AH Grow (ml/l)	AH Bloom (ml/l)	AH Micro (ml/l)	AH Enzymes (ml/l)	AH Bloom excellerator (ml/l)	AH Root stimulator (ml/l)	AH Final solution (ml/l)
1.-3.	18/6	-	-	-	-	-	0,5	-
4.-5.	18/6	0,5	0,2	0,2	0,5	-	0,5	-
6.-7.	18/6	1	0,5	0,5	0,5	-	0,5	-
8.-9.	12/12	0,5	1	0,5	0,5	0,5	-	-
10.-13.	12/12	-	1,5	0,5	0,5	0,5	-	-
14.-15	12/12	-	-	-	-	-	-	1

*Světelný režim a dávkování hnojiv bylo stanoveno dle doporučení výrobce (<https://www.advancedhydro.com/>).

4.2 Zpracování rostlin léčebného konopí

4.2.1 Sklizeň a sušení

Termín každé sklizně byl stanoven dle změny barvy pestíků a barvy výměšků žláznatých trichomů. Květenství konopí každé rostliny byla sklizena ručně pomocí nůžek a byla sušena v sušárně (určené pouze pro konopí) při 28 °C. Po jejich usušení byla vložena do vzduchotěsných sáčků a uskladněna v mrazáku (-18 °C).



Obrázek 33 a 34: Ruční sklizeň a květenství konopí připravené k sušení (autorka, 2017).

4.2.2 Homogenizace

Ze sušených vzorků byly odstraněny větší stonky a následně byly homogenizovány elektrickým mlýnkem (Concept/Valentino – KM 5001) na velikost částic cca 2 mm.

4.2.3 Extrakce

Extrakt z rostlin jednotlivých genotypů byly připraveny v poměru 1 díl drogy ku 5 dílům 96 % ethanolu a 14 dní ponechány na třepače. Po 14 dnech byly extrakty přefiltrovány přes filtrační papír (FILTRAK 390, ČR) a odpařeny na vakuové odparce (Heidolph 4000, Německo) do konstantní hmotnosti.

4.3 Kvalitativní a kvantitativní analýzy hlavních biologicky aktivních látek

Pomocí plynové chromatografie byly v sušeném květenství i extraktech analyzovány hlavní kanabinoidy Δ^9 -THC a CBD a látky terpenické povahy, kdy všechny vzorky byly připraveny ve třech opakováních.

4.3.1 Stanovení obsahu hlavních kanabinoidů

Analýza byla provedena pomocí plynového chromatografu s plamenově-ionizačním detektorem (GC-FID) Agilent Technologies 6890N (Palo Alto, CA, USA).

Příprava vzorků

Do 20 ml šroubovacích vialek bylo naváženo 100 mg rostlinného materiálu (navážka extraktu byla 4× nižší) a extrahováno v 10 ml 96% ethanolu s vnitřním standardem tribenzylaminem (TBA) o koncentraci 0,5 mg TBA/1 ml 96% ethanolu. Roztok byl ponechán 15 minut v ultrazvukové lázni a poté přefiltrován přes filtrační papír (FILTRAK 390, ČR). Do 2 ml vialky bylo odpipetováno 500 μ l tohoto filtrátu a ponecháno 12 minut dekarboxylovat při teplotě 130 °C. Dále bylo do každé vialky přidáno 1,5 ml 96% ethanolu a vzorky byly analyzovány za podmínek uvedených v Tabulce 8.

Pro přípravu kalibrační řady byly použity standardy: 1 mg Δ^9 -THC/ml methanolu, 1 mg CBD/ml methanolu a jako interní standard byl použit tribenzylamin (TBA) o koncentraci 0,5 mg/ml ethanolu (Sigma-Aldrich, ČR). Pro Δ^9 -THC byla kalibrační řada připravena v koncentracích 0,1 – 20 % a pro CBD v koncentracích 0,1 – 10 % (UNODC, 2009).

Tabulka 8: Podmínky analýzy Δ^9 -THC a CBD

Kolona	15 m × 0.25 mm, 0.25 μ m
Mobilní fáze	5% difenyl – 95% dimethylpolysiloxan
Nosný plyn	dusík, 1.1 ml/min, konstantní tok
Režim nástřiku	split 280 °C
Dělicí poměr	20:1
Teplotní program	2 min při 200 °C, 10 °C/min 200-240 °C, 2 min při 240 °C
Teplota Detektoru	300 °C
Nástřik	1.5 μ l

4.3.2 Stanovení relativního obsahu terpenických látek v konopných extraktech

Pro identifikaci a relativní kvantifikaci byly vzorky připraveny ve třech opakováních o koncentraci 2 mg extraktu/ml hexanu do 2 ml vialek.

Analýzy byly provedeny pomocí plynového chromatografu s plamenově-ionizačním detektorem (GC-FID) Agilent Technologies 7890A (Palo Alto, CA, USA) a plynového chromatografu s hmotnostním detektorem 5975C (GC-MS) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Podmínky pro jednotlivé analýzy jsou uvedeny v Tabulce 9.

Detekované látky pomocí GC-MS byly identifikovány na základě porovnání hmotnostních spekter a relativních retenčních indexů s literaturou, databází National Institute of Standards and Technology (NIST) a s dostupnými standardy: β -pinen, limonen, linalol, fenchol, borneol, β -karyofylen, α -humulen, guaiol a β -eudesmol (Sigma-Aldrich, ČR).

Relativní obsahy identifikovaných látek byly zjišťovány pomocí GC-FID a jsou vyjádřeny na základě porovnání plochy píku sledované látky ku celkové ploše všech detekovaných látek.

Tabulka 9: Podmínky analýzy terpenických látek v konopných extraktech

	GC-MS	GC-FID
Kolona	HP-5MS 30 m × 0,25 mm, 0,25 μ m	DB5 30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m
Mobilní fáze	5 % fenylmethylsiloxan	5% difenyl – 95% dimethylpolysiloxan
Nosný plyn	helium, 1 ml/min, konstantní tok	dusík, 1.0 ml/min, konstantní tok
Režim nástřiku	Splitless 230 °C	split 230 °C
Dělicí poměr	-	15:1
Teplotní program	60 °C na 3,5 min, 3,5 °C/min na 150 °C, 30 °C/min na 300 °C po 10 min	60 °C, 3,5 °C/ min na 150 °C, 30 °C/min na 300 °C po 10 min
Teplota Detektoru	300 °C	300 °C
Nástřik	1,5 μ l	1,5 μ l

4.4 Cytotoxicita konopných extraktů

4.4.1 Biologický materiál a chemikálie

Tabulka 10: Testované buněčné linie

Caco-2 ATCC*	lidské epiteliální buňky kolorektálního adenokarcinomu
HT-29 ATCC	lidské epiteliální buňky kolorektálního adenokarcinomu
Hep-G2 ATCC	lidské epiteliální buňky hepatokarcinomu
MRC-5 ATCC	lidské plicní fibroblasty
FHs 74 Int ATCC	lidské epiteliální buňky tenkého střeva

*American Type Culture Collection

Živná média, chemikálie a materiál:

Dulbecco Modified Eagles Medium (DMEM), Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM), fetální bovinní sérum (FBS), fosfátový pufr (PBS), hydrogen uhličitán sodný, neesenciální aminokyseliny, penicilin, pyruvát sodný, streptomycin, trypsin, 3-(4,5-Dimetyltiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (DMTT), (Sigma-Aldrich, ČR).

Hybri-Care Medium ATCC 46-X (ATCC, USA). Dimethylsulfoxid (DMSO), (Lach-Ner, ČR). kultivační láhve, serologické pipety, mikrotitrační destičky (Termo Fisher, Velká Británie). Readr Tecan Infinite M200.

4.4.2 Kultivace buněčných linií

Buněčné linie kolorektálního karcinomu (Caco-2 a HT-29) byly kultivovány v DMEM s 10% FBS, 1% roztoku penicilinu a streptomycinu, 1% hydrogenuhličitanu sodného, 1% roztokem pyruvátu sodného a 1% neesenciálních aminokyselin.

Buněčné linie Hep-G2 a MRC-5 byly kultivovány v EMEM s 10% FBS, 1% roztoku penicilinu (10 000 MJ) a streptomycinu (100 mg), 1% neesenciálních aminokyselin a glutaminem (4 mM respektive 2 mM Hep-G2 a MRC-5).

Buněčná linie FHs 74 Int byla kultivována v Hybri-Care médiu ATCC 46-X s 30 ng/ml epidermálního růstového faktoru (EGF), 10% FBS a 1% roztoku penicilinu a streptomycinu. Buňky byly pěstovány v kultivačních láhvích (75 cm²) s 15 ml příslušného media, které byly vloženy do inkubátoru s řízenou atmosférou obsahující 5 % CO₂ a teplotou 37 °C, medium bylo měněno každé dva dny.

Buňky byly po sedmidenní kultivaci propláchnuty pomocí fosfátového pufru (PBS) aby bylo odstraněno staré médium. Následně bylo přidáno 5 ml trypsinu. Po 3 minutách byl trypsin

neutralizován pomocí 1 ml media. Následně byla buněčná monovrstva mechanicky uvolněna a přenesena do 15 ml zkumavky typu Falcon. Vzorky byly centrifugovány po dobu 10 minut při 200 g. Staré médium bylo odstraněno a buňky naředěny v novém médiu. Buňky byly spočítány pomocí Bürkerovy komůrky a naředěny na koncentraci $2,5 \times 10^3$ buněk na 1 ml suspenze.

4.4.3 Test cytotoxicity (MTT)

Pro stanovení cytotoxicity byla využita metoda dle Mosmanna (1983) s modifikacemi. Připravená buněčná suspenze o koncentraci $2,5 \times 10^3$ buněk/ml byla pipetována do 96 – jamkové destičky v množství 200 μ l. Po 24 hodinách bylo odstraněno staré médium a přidáno 100 μ l nového média spolu s testovanými vzorky extraktů v daných koncentracích (500 – 15,625 μ g/ml). Vzorky byly inkubovány po dobu 72 hodin. Po této době bylo médium se vzorky odstraněno a nahrazeno 100 μ l čistého média s MTT (1 mg/ml). Po 2 hodinách v CO₂ inkubátoru bylo médium s MTT odstraněno a nahrazeno 100 μ l DMSO. Absorbance byla měřena při 555 nm a 720 nm jako referenční hodnoty. Procento životaschopných buněk bylo vypočteno v porovnání s kontrolou, kde byly buňky bez přidání testovaných látek.

4.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Pro posouzení stability výnosů květenství a obsahu hlavních kanabinoidů v průběhu šesti cyklů a pro zhodnocení výnosového a kvalitativního potenciálu jednotlivých genotypů byla použita metoda ANOVA na hladině významnosti $p < 0.05$ a Tukeyho post hoc test (ANOVA Statistica 12, StatSoft12, CZ). Stejná metoda byla použita i pro zjištění statisticky významných rozdílů ve výtěžnosti extraktů z jednotlivých genotypů a rozdílů v jejich obsahu Δ^9 -THC a CBD.

Pro vyhodnocení relativního zastoupení terpenických látek a výsledků inhibiční koncentrace cytotoxicity konopných extraktů byly použity základní popisné statistiky (průměr a směrodatná odchylka).

5 Výsledky a Diskuze

5.1 Výnosy sušeného květenství a stabilita hlavních kanabinoidů

Z relevantních zdrojů jsou dostupné především informace o tzv. technickém konopí pěstovaném ve venkovních podmínkách za účelem dosažení co nejvyšších výnosů kvalitního vlákna nebo semene. O konopí pěstovaném v indoor podmínkách pro produkci samičího květenství s vysokým obsahem účinných látek můžeme nalézt informace zejména ve studiích forenzní vědy. Z těchto studií však nelze plně vycházet pro účely léčebného využití, neboť rostlinný materiál pochází ze zabavené ilegální produkce (Huizer and Poortman–van der Meer, 1995; Vanhove et al, 2012; Toonen et al, 2006; Decorte, 2010). V těchto případech nebývá většinou známo mnoho faktorů, které mohou výnosy a obsah kanabinoidů ovlivnit a také nelze experimenty zopakovat v rámci ověření výsledků.

Každý genotyp má své specifické vlastnosti a nároky na pěstování jako je například výška vzrůstu nebo délka vegetační doby. Genotyp National Health Service musel být z těchto důvodů po 2. pěstebním cyklu z naší studie vyřazen, neboť výrazně svým vzrůstem i vegetační dobou převyšoval ostatní. To mělo za následek, že se ve druhém cyklu začala jeho vrcholová květenství pálit o zářivky, rostliny byly ve stresu a začaly vedle samičích květů vytvářet i samčí – hermafroditismus. Došlo tedy k opylení i ostatních genotypů v pěstírně, což mělo vliv na výnosy květenství ve 2. cyklu (Tabulka 11). Překvapivě tento problém ve 2. cyklu neměl na úkor semen zásadní vliv na obsah Δ^9 -THC a CBD, jak by se dalo předpokládat. Je však možné, že se následky hermafroditismu a opylení projeví až ve 3. cyklu, kde byly naměřeny obsahy Δ^9 -THC a CBD nejnižší (Tab. 12 a Tab. 13). Také se vyřazením National Health Service změnila ve 3. – 6. cyklu hustota z 10,5 na 9 rostlin/m², což ale jak je patrné nemělo nijak zásadní vliv.

Celkové výnosy se pohybovaly v rozmezí 138,59 – 231,08 g/m². Výsledky z druhého cyklu nejsou do tohoto rozmezí zahrnuty, protože téměř 13 % hmotnosti sušeného květenství tvořila semena. Nejnížší výnosy byly zaznamenány v 5. cyklu a výnosy nejvyšší byly zjištěny v cyklu čtvrtém. Lze tedy konstatovat, že až na 5. cyklus, byly výnosy celkem stabilní (viz Tabulka 11).

Průměrný výnos na rostlinu v průběhu všech cyklů byl 21,02 ± 3,33 g. Statisticky mezi jednotlivými genotypy nebyly prokázány významné rozdíly (viz Tabulka 11).

Ve studii Vanhove et al. (2011) byly v průběhu jednoho cyklu testovány 4 chemotypově podobné genotypy konopí (Super Skunk, Northern Light #5 x Haze, White Widow and Big Bud) jako v našem experimentu. Vanhove et al pěstovali rostliny ve čtyřech různých variantách pěstebních podmínek. Byly použity 400 W a 600 W zářivky, při hustotě 16 a 20 rostlin/m². Při hustotě 16 rostlin/m² a osvětlení 400 W/m² bylo dosaženo podobných výnosů v g/m² jako v naší studii, ale výnosy Vanhove et al (2011) v g/rostlinu byly nižší, což je logické vzhledem k vyšší hustotě rostlin na m² v jejich studii.

Holandská jurisdikce vycházela do roku 2008 z šetření provedeného společností Huizer & Poortman–van der Meer (Vanhove et al, 2012), která odhadovala výnosy konopí pěstovaného v indoor podmínkách na 22 g/rostlinu (Huizer et Poortman–van der Meer, 1995). I přesto, že tento výzkum byl založen na zabavených nezralých rostlinách, což způsobilo nepřesné odhady výnosů (Vanhove et al, 2012), shoduje se tento odhad s průměrným výnosem v g/rostlinu v naší studii. Toonen et al. (2006) vzali při výzkumu v úvahu vývojové fáze rostlin a byl zjištěn průměrný výnos 28,1 g/rostlinu při hustotě 15 rostlin/ m² a osvětlení 510 W/m².

Rostlina konopí reaguje na mnoho faktorů, jako je například teplota, vlhkost, stres atd., ale tím nejdůležitějším faktorem je světlo (Adams, 2012). S vyšším počtem W/m² se úměrně zvyšuje také výnos květenství. Na výnosy má intenzita světla a hustota rostlin větší vliv než genotyp, a naproti tomu genotyp má větší vliv na obsah kanabinoidů (Vanhove et al, 2011; Toonen et al, 2006).

Tabulka 11: Průměrné výnosy sušeného květenství (g/rostlinu) jednotlivých genotypů v průběhu šesti cyklů.

Genotyp	Cyklus I.	Cyklus II.	Cyklus III.	Cyklus IV.	Cyklus V.	Cyklus VI.	Celkem/g
	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.
Conspiracy Kush	15,64±2,62	20,02±5,25	18,12±8,13	23,97±7,20	12,60±1,98	19,40±3,08	18,07±3,90
Nurse Jackie	20,61±2,57	29,46±6,85	33,36±9,32	23,78±1,65	16,50±6,50	22,41±0,94	24,74±6,11
Jilly Bean	17,05±5,60	24,14±7,96	26,68±7,56	30,98±1,68	16,31±2,55	21,34±0,83	23,03±5,68
Nordle	14,35±2,83	19,76±1,65	24,94±2,03	29,34±4,65	11,71±3,93	18,66±4,57	20,02±6,54
Jack Cleaner 2	19,29±3,75	21,47±1,48	27,43±6,23	27,36±5,51	18,75±2,03	23,58±1,27	22,86±3,83
Jack Skellington	13,11±3,73	12,66±5,79	16,13±5,19	18,62±10,5	16,52±7,25	23,61±5,83	15,41±4,02
National Health Service	18,56±3,97	27,50±7,50					23,03±6,32
Celkem/m²	177,91	232,51	220,00	231,08	138,59	193,51	21,02±3,33

*tučně jsou zvýrazněny průměrné výnosy jednotlivých genotypů v g/rostlinu a průměrné výnosy v g/m² v jednotlivých cyklech

Průměrné obsahy Δ^9 -THC v rostlinách (viz Tabulka 12) se v průběhu šesti jednotlivých cyklů pohybovaly v rozmezí od $15,69 \pm 2,6$ % do $19,31 \pm 2,47$ %. Nejnižší obsahy Δ^9 -THC byly naměřeny ve 3. cyklu, který se statisticky významně lišil od 1., 2., 5., a 6. cyklu. První cyklus, kde byly naměřeny hodnoty Δ^9 -THC nejvyšší se statisticky prokazatelně lišil kromě 3. také od 4. cyklu. Lze říci, že až na 3. cyklus, se genotypy obsahem Δ^9 -THC jeví jako stabilní.

Průměrné obsahy Δ^9 -THC u jednotlivých odrůd za všech 6 pěstebních cyklů (viz Tabulka 12) se pohybovaly v rozmezí $15,9 \pm 2,04$ % až $20,77 \pm 1,62$ %. Nejnižší obsahy byly naměřeny v genotypu Nordle ($15,90 \pm 2,04$), který se statisticky významně lišil od genotypů Conspiracy Kush, Jack Cleaner 2, Jack Skellington a National Health Service. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u genotypů Jack Cleaner 2 ($20,77 \pm 1,62$) a Jack Skellington ($19,45 \pm 3,15$), které se statisticky prokazatelně lišily od ostatních s výjimkou genotypu National Health Service, který byl však po 2. cyklu vyřazen.

Průměrné obsahy CBD v rostlinách (viz Tabulka 13) se v průběhu šesti jednotlivých cyklů pohybovaly v rozmezí od $0,45 \pm 0,1$ % do $0,57 \pm 0,08$ %. Nejnižší obsahy CBD byly naměřeny ve 3. cyklu, který se statisticky významně lišil od 1., 4., a 6. cyklu. Což je ve shodě s nejnižšími naměřenými obsahy Δ^9 -THC ve 3. cyklu, které se také prokazatelně lišily s 1. a 6. cyklem. Lze říci, že až na 3. cyklus, se genotypy obsahem CBD jeví jako stabilní.

Průměrné obsahy CBD u jednotlivých odrůd za všech 6 pěstebních cyklů (viz Tabulka 13) se pohybovaly v rozmezí $0,45 \pm 0,06$ % až $0,6 \pm 0,06$ %. Nejnižší obsahy byly naměřeny v genotypu Nordle, který se statisticky významně lišil od genotypů Nurse Jackie, Jack Cleaner 2 a Jack Skellington. Což je ve shodě s nejnižším naměřeným množstvím Δ^9 -THC v genotypu Nordle, který se také prokazatelně lišil od genotypů Jack Cleaner 2 a Jack Skellington.

Nejvyšší hodnoty CBD byly naměřeny u genotypů Jack Cleaner 2 a Jack Skellington, které se statisticky prokazatelně lišily kromě genotypu Nordle také od genotypů Conspiracy Kush, a Jilly Bean. Což je opět ve shodě s nejvyššími naměřenými hodnotami Δ^9 -THC. Genotyp Jack Cleaner 2 se dále statisticky významně lišil od genotypu National Health Service. Vysoká množství CBD byla naměřena také u genotypu Nurse Jackie, který byl prokazatelně odlišný od Conspiracy Kush, a Jilly Bean (viz Tabulka 13).

Tabulka 12: Průměrné obsahy Δ^9 -THC (%) v sušeném květenství jednotlivých genotypů v průběhu šesti cyklů.

Genotyp	Cyklus I.	Cyklus II.	Cyklus III.	Cyklus IV.	Cyklus V.	Cyklus VI.	Genotyp
	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.
Conspiracy Kush	21,07±3,39	17,85±2,53	13,86±2,00	18,30±2,30	18,16±2,76	19,32±2,51	18,09±2,38^{bc}
Nurse Jackie	18,55±1,7	17,35±2,31	18,52±1,01	14,96±1,98	16,73±2,35	18,36±1,71	17,41±1,41^{bcd}
Jilly Bean	16,39±2,1	16,44±1,36	14,68±1,91	18,38±2,87	17,78±1,50	16,76±1,00	16,74±1,28^{cd}
Nordle	16,46±3,06	16,15±0,96	11,99±0,57	16,03±1,13	16,75±0,55	18,01±0,46	15,90±2,04 ^d
Jack Cleaner 2	22,15±0,53	21,74±0,52	18,26±0,40	19,93±0,42	20,09±0,67	22,43±1,12	20,77±1,62^a
Jack Skellington	22,07±1,79	20,21±1,45	16,81±1,25	15,23±1,15	23,56±0,7	18,82±0,92	19,45±3,15^a
National Health Service	18,51±1,65	19,83±1,46					19,17±0,93 ^{ab}
Cyklus	19,31±2,47^a	18,51±2,11 ^{cd}	15,69±2,6^e	17,14±2,01 ^{bcde}	18,85±2,62 ^{bc}	18,95±1,91 ^{ab}	

*tučně jsou zvýrazněny průměrné obsahy Δ^9 -THC u genotypů, které vyhovují české legislativě i poptávce a prokazatelně nejvyšší a nejnižší obsahy Δ^9 -THC v jednotlivých cyklech.

Tabulka 13: Průměrné obsahy CBD (%) v sušeném květenství jednotlivých genotypů v průběhu šesti cyklů.

Genotyp	Cyklus I.	Cyklus II.	Cyklus III.	Cyklus IV.	Cyklus V.	Cyklus VI.	Genotyp
	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.
Conspiracy Kush	0,55±0,06	0,45±0,08	0,40±0,02	0,52±0,05	0,48±0,04	0,54±0,05	0,49±0,06^d
Nurse Jackie	0,59±0,03	0,50±0,02	0,64±0,36	0,52±0,06	0,51±0,06	0,59±0,07	0,56±0,06^{ac}
Jilly Bean	0,46±0,03	0,45±0,02	0,40±0,02	0,60±0,22	0,46±0,03	0,47±1,00	0,47±0,07^d
Nordle	0,46±0,06	0,42±0,03	0,35±0,01	0,48±0,02	0,48±0,02	0,52±0,01	0,45±0,06^d
Jack Cleaner 2	0,58±0,03	0,60±0,03	0,49±0,02	0,67±0,04	0,59±0,03	0,65±0,06	0,60±0,06^a
Jack Skellington	0,61±0,05	0,52±0,03	0,44±0,01	0,49±0,01	0,64±0,01	0,67±0,02	0,56±0,09^{ab}
National Health Service	0,51±0,05	0,51±0,05					0,51±0,00 ^{bcd}
Cyklus	0,54±0,06 ^{bc}	0,49±0,06 ^{bcd}	0,45±0,1 ^d	0,55±0,07 ^{ab}	0,53±0,07 ^{cd}	0,57±0,08 ^a	

*tučně jsou zvýrazněny průměrné obsahy CBD u genotypů, které vyhovují české legislativě i poptávce.

Ve výnosech nebyly mezi jednotlivými genotypy statisticky průkazné rozdíly, naproti tomu v obsahu Δ^9 -THC a CBD se mezi jednotlivými genotypy projeví rozdíly statisticky významné (Tab. 12 a Tab. 13). Tyto diference v obsahu hlavních kanabinoidů, lze přisuzovat mimo jiné tomu, je-li hybrid geneticky z větší části ssp. *sativa* nebo ssp. *indica*. U genotypů, kde převládá ssp. *sativa*, jak je uvedeno v Tabulce 6, byly zjištěny vyšší obsahy kanabinoidů než u genotypů ssp. *indica*.

Stále je třeba respektovat, že rostliny pěstované v indoor prostředí jsou mnohem náročnější na stabilní podmínky a formu rozmnožování než rostliny pěstované v outdoor podmínkách. Tím si lze například vysvětlit nižší výnosy a nejvyšší obsahy Δ^9 -THC u rostlin v 1. cyklu, které byly vypěstované z regulérních semen.

Tyto rostliny byly dále klonovány do cyklu 2. a od tohoto cyklu byla každá rostlina klonována do cyklu dalšího. Jelikož se z výsledků jeví 6 ze 7 genotypů jako relativně stabilní, nemá po dobu šesti cyklů reklonování rostlin na výnosy ani obsah kanabinoidů zásadní vliv.

Ve většině států, kde je léčebné konopí legální, je obsah Δ^9 -THC a CBD stanoven zákonem, vyhláškou nebo poptávkou příslušné instituce a pacientů. Například, významně používaným genotypem v Holandsku je Bedrocan® (Bedrocan BV), který má průměrný obsah Δ^9 -THC 18 % (15,5 – 21,0 %) a obsah CBD do 1 % (Hazekamp, 2006).

V České Republice je sice vyhláškou (236/2015 Sb.) stanoveno široké rozmezí pro obsah těchto dvou kanabinoidů v sušeném květenství, ale Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL) jsou po pěstiteli požadovány pouze 2 chemovary. Celková objednávka SÚKL pro ČR činí 40 kg konopí na 4 roky, z čehož by mělo být vypěstováno 75 % chemovaru s obsahem 19 % Δ^9 -THC a do 1 % CBD a 15 % by mělo být vypěstováno chemovaru s obsahem 6 % Δ^9 -THC a 7,5 % CBD. Vyhláškou je dále stanovena směrodatná odchylka ± 20 % z požadovaného obsahu což v případě prvního chemovaru odpovídá rozmezí 15,2 – 22,8 % Δ^9 -THC a u CBD by neměl být obsah vyšší než 1,2 %.

Z této studie vyplývá, že genotypy Conspiracy Kush, Jilly Bean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington a Nurse Jackie odpovídají obsahem hlavních kanabinoidů požadavkům české legislativy i aktuálním požadavkům SÚKL.

5.2 Výtěžnost ethanoloých extraktů a jejich majoritní biologicky aktivní látky

Pro následné *in vitro* testy biologické aktivity byly ze sušeného květenství vybraných genotypů vyrobeny etanolové extrakty. Výtažky ze samičího květenství jsou ideální formou aplikace při léčbě konopím, neboť lze přesně upravit poměr a koncentrace účinných látek a je možné z nich vyrobit celou řadu přesně definovaných léčivých přípravků, jako jsou tinktury, oleje, masti, koláčky, čípky a další. Konopné extrakty lze dále inkorporovat nebo enkapsulovat do různých nanomateriálů, určených pro výrobu například nanovlákných léčivých obvazových a krycích materiálů, tamponů na bolestivou menstruaci nebo léčiv s řízeným uvolňováním účinných látek.

Většina států, kde je léčba konopím legální, jsou při terapii nejčastěji používány právě extrakty ve všemožných formách aplikace. V České republice stávající legislativa zatím používání extraktů v léčbě neumožňuje, ač je od roku 2014 odborníky i veřejností apelováno na Ministerstvo Zdravotnictví ČR a SÚKL, aby nejen používání usušeného květenství, ale i jeho výtažků bylo zařazeno do příslušných legislativních dokumentů i do Českého lékopisu.

V poslední době je ve výzkumu léčebného konopí věnována velká pozornost konopným extraktům a takzvanému „Entourage Effect“, neboli léčebným účinkům komplexního spektra účinných látek. Z mnoha studií je známo, že některé látky mohou zvyšovat ale také snižovat nebo zcela blokovat biologickou aktivitu dalších účinných látek v rostlině, či v jejím výtažku (Mechoulam, 2012, Russo and Guy, 2006, Morgan et al, 2010, Russo, 2011).

V průměrné výtěžnosti extraktů jednotlivých genotypů (viz Tabulka 14) nebyly v naší studii zjištěny statisticky významné rozdíly, ač to na první pohled tak nevypadá. Patrné byly spíše rozdíly v jednotlivých opakováních, přestože byly všechny extrakty připravovány stejně. Ve studii Catchpole et al (1996) bylo zjištěno, že výtěžnost extraktů a obsahových látek je dána délkou extrakce a velikostí extrahovaných částic.

Statisticky prokazatelně byl nejvyšší obsah obou kanabinoidů naměřen v extraktu z genotypu Nurse Jackie. Nejnižší obsah Δ^9 -THC byl zjištěn v extraktu z genotypu Jack Skellington a nejnižší obsah CBD v extraktech genotypů Conspiracy Kush a Jilly Bean. Ostatní extrakty se v obsahu Δ^9 -THC a CBD nijak významně nelišily od celkového průměru.

Tabulka 14: Výtěžnost extraktů z vybraných genotypů léčebného konopí a jejich obsah Δ^9 -THC a CBD

Genotyp	Výtěžnost (%)	Δ^9 -THC (%)	CBD (%)
	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.
Conspiracy Kush	23,83 ± 6,01	60,78 ± 1,05 ^{ab}	1,64 ± 0,07 ^c
Jilly Bean	18,32 ± 1,85	57,9 ± 0,53 ^{bc}	1,74 ± 0,11 ^c
Jack Cleaner 2	17,8 ± 8,38	58,57 ± 0,9 ^b	1,82 ± 0,09 ^{bc}
Jack Skellington	25,34 ± 8,89	55,13 ± 0,4 ^c	1,96 ± 0,05 ^{ab}
Nordle	16,35 ± 3,72	59,74 ± 0,43 ^{ab}	1,79 ± 0,05 ^{bc}
Nurse Jackie	23 ± 2,4	61,92 ± 2,21 ^a	2,1 ± 0,09 ^a
Celkový průměr	20,77 ± 6,06	59,01 ± 2,43	1,84 ± 0,17

Mezi přední světové odborníky v oblasti biologicky aktivních látek v konopí a jejich vzájemné synergii patří Ethan Russo, MD. Ve svém review (2019) zdůrazňuje, že kategorizace konopí pouze na „sativa“, „indica“ a „ruderalis“ je nevyhovující, vzhledem k neustálému šlechtění nových genotypů a jejich hybridizaci.

Již ve studii z roku 2017 Russo rozděluje konopí do dvou základních skupin: 1. dle specifického obsahu kanabinoidů a 2. dle specifického obsahu terpenoidů.

První skupina je dále rozdělena na Typ I s převládajícím Δ^9 -THC, Typ II s vyrovnaným poměrem Δ^9 -THC a CBD a Typ III s převládajícím CBD. Druhá skupina, která by měla doplňovat a blíže specifikovat skupinu první, je dále dělena dle převládajících terpenoidů, například: pinenový typ, limonenový typ, karyofylenový typ, humulenový typ a další (viz příloha 1).

Pro ilustraci lze uvést chemovar CaryolidolTM, který má vylepšený obsah karyofylenu (0,83 %) jakožto agonisty CB2 receptorů společně s příznivým poměrem Δ^9 -THC:CBD Typu III (1:39,4). Tento typ by mohl být vhodný například při léčbě bolesti, zánětu, fibrotycké poruchy, závislosti, úzkosti, deprese, autoimunitních onemocnění, dermatologických potíží a rakoviny (Pacher et Mechoulam, 2011; Russo, 2011; Xi et al, 2011; Russo et Marcu, 2017; Lewis et al, 2018).

Tabulka 15: Látky terpenické povahy a jejich relativní % v etanolových extraktech z vybraných genotypů léčebného konopí

Název	RI	Genotyp					
		CK průměr±s.o.	JB průměr±s.o.	JC průměr±s.o.	JS průměr±s.o.	N průměr±s.o.	NJ průměr±s.o.
β-pinen ^{a,b}	982	0,5±0,01	-	-	-	-	-
myrcen ^a	991	-	1,49±0,17	-	0,41±0,02	1,22±0,26	0,73±0,11
limonen^{a,b}	1036	5,59±0,25	0,76±0,06	0,37±0,01	0,58±0,03	1,68±0,36	0,5±0,05
β-ocimen ^a	1056	-	-	0,5±0,02	-	0,65±0,14	-
cis-linalol oxid ^a	1075	-	0,49±0,03	0,36±0,04	0,32±0,03	-	-
terpinolen ^a	1088	0,34±0,02	1,4±0,25	-	-	-	0,47±0,22
linalol^{a,b}	1101	10,06±0,29	3,13±0,28	1,99±0,14	2,32±0,15	4,98±1,07	1,89±0,08
fenchol^{a,b}	1123	5,68±0,24	0,51±0,07	1,01±0,06	-	1,5±0,31	-
pinan-2-ol ^a	1132	3,92±0,12	-	0,7±0,05	-	1,04±0,21	0,5±0,01
myrcenon ^a	1148	-	0,73±0,07	0,32±0,04	0,45±0,05	-	-
citronelal ^a	1152	0,73±0,01	0,6±0,05	-	0,27±0,05	-	-
trans-β-terpineol ^a	1163	-	0,6±0,05	0,4±0,04	0,43±0,07	-	0,43±0,02
borneol ^{a,b}	1176	1,02±0,11	-	0,41±0,05	-	0,51±0,1	-
cis-pinokarveol^a	1182	-	7,36±0,68	1,43±0,09	12,36±1,01	-	6,2±0,1
p-cymene-8-ol ^a	1190	-	1,21±0,11	0,38±0,04	2,23±0,19	-	1,02±0,02
α-terpineol^a	1197	7,75±0,16	3,32±0,3	3,86±0,27	1,93±0,12	3,76±0,81	1,21±0,03
trans-chrysanthenyl acetát ^a	1227	-	1,34±0,11	-	1,53±0,09	-	1,23±0,03
isopulegol acetát ^a	1308	-	0,61±0,06	-	-	-	-
dimetoxi-citral ^a	1311	-	0,77±0,05	-	1,86±0,15	-	0,93±0,01
β-elemen ^a	1391	-	0,74±0,11	-	-	-	-
cis-α-bergamoten ^a	1414	-	-	-	-	0,7±0,14	-
β-karyofylen^{a,b}	1421	5,85±0,24	2,75±0,32	2,46±0,18	0,71±0,05	8,06±4,69	4,26±0,26
trans-α-bergamoten^a	1435	0,83±0,04	1,51±0,19	1,32±0,08	0,41±0,03	4,2±0,89	1,4±0,07
guaien ^a	1437	-	-	-	-	-	1,16±0,12
α-humulen^{a,b}	1458	2,09±0,11	2,36±0,22	0,77±0,04	0,29±0,06	5,04±1,18	2,28±0,17
aloaromadendren ^a	1475	-	-	-	0,72±0,03	-	-
γ-kurkumen^a	1480	-	0,71±0,11	0,94±0,30	4,61±0,29	0,64±0,14	2,37±0,04
β-selinen ^a	1486	-	1,32±0,12	-	-	0,63±0,15	-
α-selinen ^a	1490	-	0,68±0,24	0,78±0,2	1,24±0,06	0,46±0,13	1,22±0,05
β-bisabolol ^a	1509	0,86±0,03	0,66±0,11	0,54±0,05	0,35±0,06	0,57±0,16	0,49±0,11
δ-kadinen ^a	1522	-	-	-	0,99±0,21	-	-
β-seskvifelandren ^a	1527	-	0,92±0,23	0,31±0,04	-	0,97±0,21	1,08±0,08
nerolidol Z ^a	1534	-	-	-	0,59±0,2	-	-
selina-3,7(11)-dien^a	1541	-	0,57±0,04	-	-	-	11,45±0,23
elemol ^a	1545	1,48±0,08	1,02±0,11	0,52±0,22	0,64±0,21	0,43±0,2	1,58±0,19
nerolidol E ^a	1566	1,1±0,01	1,42±0,44	1,73±0,25	1,28±0,6	1,72±0,5	1,68±0,01
karyofylenol ^a	1571	-	0,67±0,54	-	0,92±0,56	-	1,25±0,15
spathulenol ^a	1578	-	-	-	-	0,68±0,32	-
karyofylen oxid^a	1588	5,49±0,26	3,81±0,11	7,8±0,18	4,85±0,13	7,13±1	6,43±0,3
elemenon ^a	1594	-	0,81±0,21	0,95±0,36	0,88±0,22	0,74±0,29	1,48±0,06
guaiol^{a,b}	1599	4,41±0,15	5,26±0,09	5,02±0,27	3,17±0,36	5,21±0,34	4,34±0,14
humulen epoxid II ^a	1602	-	-	1,34±0,12	0,64±0,12	1,49±0,14	1,11±0,04
10-di-epi-kubenol ^a	1613	0,79±0,06	0,98±0,11	-	-	-	-
10-epi-γ-eudesmol ^a	1618	1,84±0,09	1,96±0,08	3,58±0,03	2,65±0,07	3,27±0,15	2,66±0,05
kubenol ^a	1625	-	0,5±0,08	0,68±0,07	0,55±0,07	-	1,07±0,03
γ-eudesmol^a	1634	4,59±0,14	5,79±0,19	5,94±0,16	4,31±0,09	5,77±0,13	4,93±0,19
globulol ^a	1644	3,31±0,14	-	1±0,86	2±0,02	-	1,6±0,06
β-eudesmol^{a,b}	1650	1,86±0,07	-	2,51±0,86	3,24±0,1	4,97±0,34	3,44±2,56
α-bisabolol oxid^a	1653	1,21±0,02	4,72±0,47	3,72±0,03	2,52±0,06	-	2,84±0,03
α-eudesmol ^a	1657	1,38±0,04	1,05±0,03	2,39±0,07	1,76±0,04	1,95±0,23	1,54±0,35
1660	1660	-	1,81±0,03	-	-	1,78±0,1	-
neznámý	1662	4,14±0,1	2,22±0,07	5,18±0,07	4,79±0,11	2,24±0,19	4,31±0,4
-	-	-	-	-	-	4,06±0,39	-
β-bisabolol^a	1669	5,27±0,05	8,21±1,92	13,61±0,56	9,62±0,41	5,11±0,42	8,89±0,07
longiborneol acetát ^a	1674	2,16±0,04	3,06±0,14	3,29±0,01	3,13±0,04	2,44±0,4	2,86±0,16
α-bisabolol oxid^a	1679	2,25±0,11	2,19±0,09	4,23±0,99	2,73±0,05	3,43±1,22	2,7±0,27
α-bisabolol^a	1682	5,16±0,02	4,65±0,09	4,79±0,07	4,12±0,05	2,92±1,32	4,4±0,19
epi-α-bisabolol ^a	1685	0,89±0,03	1,25±0,01	1,73±0,5	2,48±0,67	0,74±0,64	1,2±0,04
germacron ^a	1692	0,84±0,03	2,36±0,2	0,66±0,57	1,32±0,27	0,78±0,68	1,15±0,05
farnesol ^a	1696	0,84±0,06	-	1,32±0,13	-	-	1,44±0,07
karyophyllene acetát ^a	1700	2,37±0,15	3,35±0,1	3,17±0,2	1,2±0,28	1,02±0,88	2,68±0,88
6R,7R-bisabolon^a	1737	1,16±0,11	1,31±0,08	1,39±0,03	1,18±0,12	2,15±1,52	4,28±0,14
Σ identifikovaných piků		91,56 %	88,77 %	88,97 %	93,61 %	91,78 %	96,39 %

^a identifikováno na základě spektra a retenčního indexu (RI)

^b identifikováno na základě standardu

*tučně zvýrazněny jsou majoritní terpenické látky (nad 4 %)

V extraktech vybraných genotypů bylo identifikováno více než 60 různých látek terpenické povahy (Tabulka 15), což by mohlo pomoci k objasnění vzájemné synergie některých látek při následném testování biologické aktivity konopných extraktů.

U některých genotypů byly zjištěny v obsahu jak majoritních, tak minoritních terpenických látek podstatné rozdíly. Genotyp Conspiracy Kush výrazně převyšoval ostatní zejména obsahem látek majoritních: limonenem (3–15×), linalolem (2–5×), fencholem (3–11×, u JS a NJ nedetekován) a α -terpinolem (2–6×). Z minoritních látek převyšoval ostatní obsahem pinan-2-olu (3–7×, u JB a JS nedetekován). Jako u jediného byl detekován β -pinen, což je překvapivé, neboť spolu s α -pinenem patří mezi majoritní terpeny, obvykle přítomných ve většině konopných chemovarů (Russo, 2011; Fishedick et al, 2010; Giese et al, 2015; Nuutinen, 2018). Mohlo to být zapříčiněno například tím, že tyto monoterpeny jsou podstatně těkavější než seskviterpeny. Rychlost odpařování závisí na počtu izoprenových jednotek, bodu tání a tenzi par při dané teplotě. Čím méně izoprenových jednotek, nižší bod varu a vyšší tenze par za dané teploty, tím bude látka těkavější (Baser et Buchbauer, 2010).

Genotyp Jilly Bean převyšoval ostatní obsahem spíše minoritních látek. Pouze v extraktu z JB byl detekován isopulegol acetát ($0,61 \pm 0,06$ %) a β -elemen ($0,74 \pm 0,11$ %). Seskviterpen β -selinen byl detekován u JB ($1,32 \pm 0,12$) ve dvojnásobném množství než v extraktu z Nordle ($0,63 \pm 0,15$ %), u ostatních genotypů detekován nebyl.

Genotyp Jack Cleaner 2 výrazněji převyšoval ostatní pouze α -bisabololem ($13,61 \pm 0,56$ %), což je zároveň největší detekovaná plocha ze všech identifikovaných látek.

U genotypu Jack Skellington převyšoval nad ostatními *cis*-pinokarveol (1,5–8×, u CK a N nedetekován), *p*-cymen-8-ol (2–5×, u CK a N nedetekován) a γ -kurkumen (2–7×, u CK nedetekován). Jako u jediného byly detekovány aloaromadendren ($0,72 \pm 0,03$ %), δ -kadinen ($0,99 \pm 0,21$ %) a nerolidol Z ($0,59 \pm 0,2$ %).

Genotyp Nordle by se dal nazvat dle Russoa: „Bergamoteno-humulenový typ III“, neboť u něho převyšoval nad ostatními *trans*- α -bergamoten (2–10×) a α -humulen (2–17×). Pouze u tohoto genotypu byl detekován *cis*- α -bergamoten ($0,7 \pm 0,17$ %) a spathulenol ($0,68 \pm 0,32$ %).

Genotyp Nurse Jackie je významně odlišný od ostatních pouze vysokým obsahem selina-3,7(11)-dienu ($11,45 \pm 0,23$ %), který byl detekován také v genotypu JB, ale v mnohonásobně nižším množství ($0,57 \pm 0,04$).

5.3 Cytotoxicita konopných extraktů

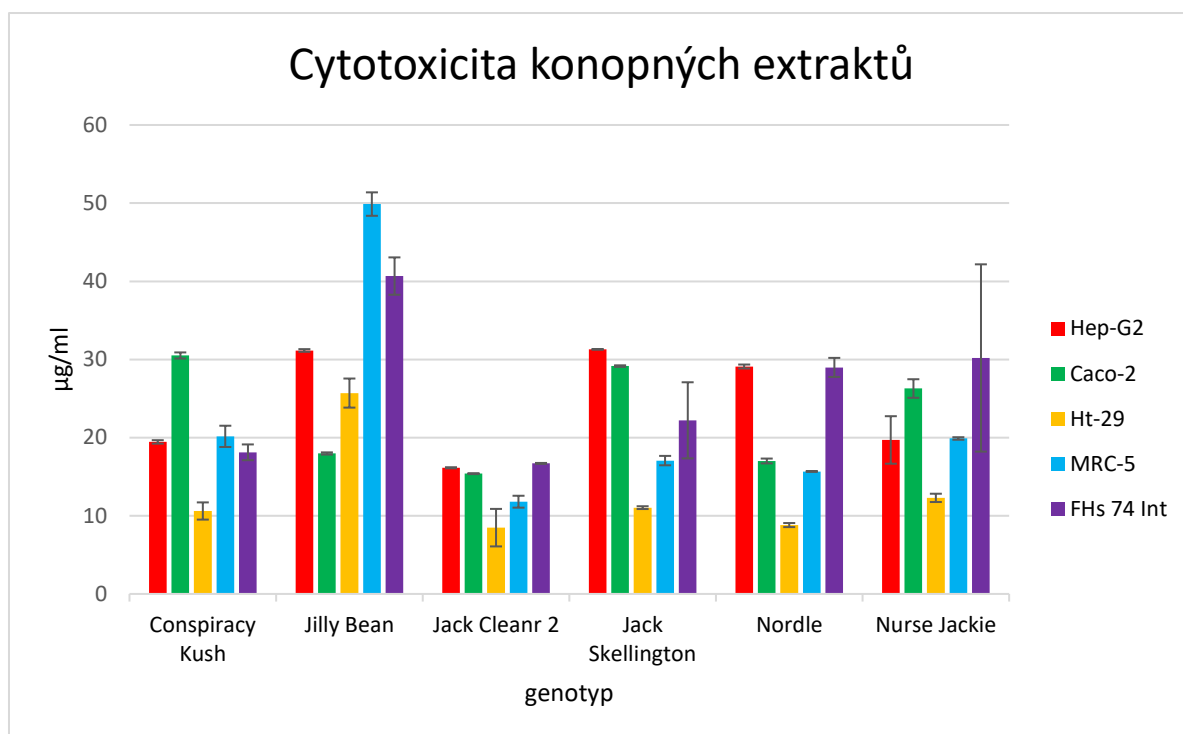
V této studii byla cytotoxicita konopných extraktů testována na buněčných liniích v *in vitro* podmínkách, které jsou naprosto odlišné od podmínek a procesů uvnitř organismu, tudíž by mohla posloužit jako prvotní podklady pro následné preklinické studie antiproliferační aktivity vybraných genotypů na zvířecích modelech.

Na Obrázku 37 je cytotoxicita graficky znázorněna a je vyjádřena v $\mu\text{g/ml}$, jako IC_{50} = množství extraktu potřebné k inhibici proliferace u 50 % buněk.

V Tabulce 16 je cytotoxicita vyjádřena pomocí indexu selektivity (SI), který byl vypočítán jako poměr IC_{50} nádorových buněčných linií ku zdravým buněčným liniím. SI pro buňky hepatokarcinomu Hep-G2 byl vztažen ke zdravým plicním liniím MRC-5 a SI pro buňky kolorektálních karcinomů Caco-2 a Ht-29 byly vztaženy ke zdravým liniím tenkého střeva FHs 74 Int.

Z výsledků je patrné, že extrakty všech genotypů vykazovaly nejvyšší pozitivně selektivní cytotoxicitu proti buňkám kolorektálního karcinomu Ht-29 ($\text{SI} = 0,49 \pm 0,12$), viz Tabulka 16. Minimální inhibiční koncentrace (IC_{50}) extraktů pro Ht-29 se pohybovaly v rozmezí od $8,48 \pm 2,4$ % do $25,7 \pm 2,39$ %, kdy extrakt z genotypu Jilly Bean se jevil jako nejméně cytotoxický. Pro IC_{50} Ht-29 i porovnávaných zdravých buněk FHs 74 Int, bylo zapotřebí $2\times$ vyšší koncentrace extraktu než ostatních (Obrázek 37).

U buněčných linií kolorektálního karcinomu Caco-2 působily selektivně cytotoxicky extrakty z genotypů Jilly Bean ($\text{SI} = 0,44$) a Nordle ($\text{SI} = 0,59$) a u linií hepatokarcinomu Hep-G2 jednoznačně selektivně na tyto buňky působil extrakt z genotypu Jilly Bean ($\text{SI} = 0,62$), viz Tabulka 16. Pouze u těchto dvou genotypů byl detekován β -selinen, kterého měl genotyp Jilly Bean mnohonásobně vyšší obsah než Nordle (Tabulka 15). Lze se domnívat, že přítomnost tohoto seskviterpenu by mohla mít vliv na výslednou pozitivně selektivní cytotoxicitu u rakovinných buněk tlustého střeva Caco-2 a rakovinných buněk jater Hep-G2.



Obrázek 35: Cytotoxicita extraktů z vybraných genotypů léčebného konopí (průměr ± s. o.)

Tabulka 16: Index selektivity cytotoxicity extraktů z jednotlivých genotypů léčebného konopí

Genotyp	SI		
	Hep-G2/ MRC-5	Caco-2/ FHs 74 Int	Ht-29/ FHs 74 Int
Conspiracy Kush	0.96	1.68	0.59
Jilly Bean	0.62	0.44	0.63
Jack Cleaner 2	1.37	0.92	0.51
Jack Skellington	1.83	1.31	0.50
Nordle	1.86	0.59	0.30
Nurse Jackie	0.99	0.87	0.41

*tučně zvýrazněny jsou vysoce pozitivní indexy selektivity

Za potenciální inhibitory vzniku a růstu nádorů v rámci nejrůznějších buněčných linií (střevní, jaterní, prsní, plicní a další), mohou být považovány kanabinoidy. Bylo zjištěno, že někteří agonisté kanabinoidních receptorů podporují jejich aktivaci buněčnou smrt nádorových buněk efektivněji než ti ostatní, kteří vykazují podobnou nebo vyšší afinitu k CB1 a CB2 receptorům (Pertwee et al, 2010).

Kanabinoidy také mohou různě ovlivňovat buněčné procesy, jako například angiogenezi, proliferaci, migraci, metastázu, zánětlivé procesy a další. Přesný mechanismus kanabinoidního protinádorového účinku zatím nebyl zcela objasněn, ale předpokládá se, že v nádorových buňkách mají kanabinoidy schopnost blokovat aktivaci vaskulárního endoteliálního růstového faktoru, což je induktor angiogeneze. Díky čemuž, nemá karcinom schopnost stimulovat tkáň ve svém okolí, která mu přivádí živiny a kyslík k dalšímu potenciálnímu růstu. Aktivací kanabinoidních receptorů ve vaskulárních endoteliálních a nádorových buňkách je inhibována proliferace, migrace a indukována apoptóza buněk (Pisanti et al, 2007).

Ve studii Sreevalsan et Safe (2013) bylo zjištěno, že po 24 hodinách inkubace syntetických kanabinoidů a buněk HT-29 při koncentracích 5 a 7,5 $\mu\text{mol/l}$ (WIN-55, 212-2), došlo u této linie k výrazné inhibici buněčné proliferace. Zatímco u linie normálních střevních buněk CCD-18Co inhibice pozorována nebyla. K podobným výsledkům došli ve své studii i Kargl et al (2013), kdy CBD při koncentracích 6–10 $\mu\text{mol/l}$ inhiboval proliferaci u buněčné linie Caco-2. To naznačuje fakt, že buňky karcinomu tlustého střeva jsou na látky kanabinoidního typu citlivé.

V extraktech testovaných v této studii byly rozdíly v obsahu hlavních kanabinoidů patrné, ale ne příliš velké (Tabulka 14). Lze se tedy domnívat, že za rozdílnou cytotoxicitu extraktů je zodpovědná synergie některých látek, nebo větší či menší náchylnost buněčných linií vůči těmto látkám.

U buněčných linií kolorektálního karcinomu Caco-2 byl SI pozitivní u čtyř extraktů, avšak u genotypů Jack Cleaner 2 a Nurse Jackie se SI pohyboval těsně pod hranicí 1,00 (Tabulka 16), tudíž tento výsledek nelze považovat za příliš relevantní. Naproti tomu u genotypů Nordle a Jilly Bean se index selektivity pohyboval kolem 0,5, podobně jako u linií Ht-29 (Tabulka 16). Pouze u těchto dvou genotypů byl detekován β -selenen (Tabulka 15). Lze předpokládat, že tento seskviterpen by mohl být zodpovědný za pozitivně selektivní cytotoxicitu na rakovinných buňkách tlustého střeva.

Ve studii Chandra et al (2017) byla testována antioxidační a další biologická aktivita silice získané destilací rostliny *Callicarpa macrophylla* z rodu krásnoplodek (*Verbenaceae*), jejímž majoritním terpenem je β -selenen. V jednotlivých rostlinných částech byl zjištěn

relativní obsah β -selinenu od 37,51 % do 57 %. Silice byly *in vivo* testovány na myších, jimž byl perorálně podáván roztok o třech různých koncentracích (5 %, 10 % a 20 %). Bylo zjištěno, že vykazovaly vyšší protizánětlivou, analgetickou a antipyretickou aktivitu, ve srovnání s konvenčně používanými léčivými (ibuprofen, paracetamol a indometacin).

Kromě zmírňování symptomů onkologických onemocnění v paliativní léčbě, přibývá počet studií *in vitro* a na zvířecích modelech, kdy byl prokázán přímý účinek kanabinoidů na rakovinné buňky. Navzdory absenci klinických studií jsou mnozími pacienty popisovány pozoruhodné výsledky o průběhu jejich nemoci, zejména pokud konopí užívají orálně, v podobě koncentrátu s vysokým obsahem účinných látek (Abrams, 2016).

U linií hepatokarcinomu jednoznačně selektivně na tyto buňky působil extrakt z genotypu Jilly Bean. Jak je patrné z Obrázku 33 pro IC_{50} u zdravých buněk bylo zapotřebí nejvyšších koncentrací extraktu oproti ostatním. Výše již bylo zmíněno, že za vysoce selektivně pozitivní cytotoxicitu na rakovinných buňkách by mohl být zodpovědný β -selinen. Jilly Bean měl mnohonásobně vyšší jeho obsah než genotyp Nordle, čímž by mohla být vysvětlena rozdílná selektivita těchto dvou genotypů na rakovinných buňkách jater.

Vzhledem k tomu, že o β -selinenu a některých dalších seskviterpenoidech nejsou informace o jejich cytotoxicitě příliš dostupné, provedl Afoulous et al (2011) trochu hlubší studii silic s obsahem těchto látek. V jejich experimentu byla testována cytotoxicita silice rostliny *Helichrysum gymnocephalum* na lidských buňkách karcinomu prsu MCF-7. Výsledky byly porovnávány s dalšími studii a byla stanovena korelace mezi obsahem terpenických látek a cytotoxicitou silic patnácti různých rostlin. Vysoká míra korelace cytotoxických účinků na MCF-7 byla potvrzena u β -selinenu ($R^2 = 0,76$), α -terpinolenu ($R^2 = 0,88$) a aromadendrenu ($R^2 = 0,90$). Biologickou aktivitu těchto látek by bylo vhodné popsat podrobněji, jak v jejich čisté formě, tak ve vzájemné synergii, aby bylo možné určit přesný mechanismus účinku.

V poslední době přibývá studií, kde je prokázáno, že rostlinné extrakty s komplexním spektrem jejich aktivních látek účinkují lépe než jejich jednotlivé látky izolovaně (Johnson et al, 2010; Manassero et al, 2012). Vzhledem k tomu, že v konopí bylo identifikováno více než 1200 různých látek a na světě je vyšlechtěno více než 700 různých chemovarů, čeká výzkum léčby konopím ještě dlouhá cesta. Nemluvě o počtu různých diagnóz či jejich odlišných stádií a individuálnímu metabolismu každého pacienta.

6 Závěry

Cílem této studie bylo popsat co nejvíce genotypů konopí, a to od pěstování, přes zpracování a chemický profil produktů ze sušeného květenství, až po jejich biologickou aktivitu.

Tato studie popisuje 7 různých genotypů, které byly pěstovány v řízených indoor podmínkách, a kromě jednoho genotypu se všechny ostatní velmi dobře přizpůsobily prostoru i způsobu pěstování.

Ze semen se podařilo vyselektovat kvalitní mateřské rostliny, které poskytly výchozí materiál do dalších pěstebních cyklů. Všechny vybrané genotypy mají poměrně stabilní obsah Δ^9 -THC i CBD, který vyhovuje vyhlášce 236/2015 Sb. a 5 z nich odpovídá chemovaru, který je v ČR ze 75 % požadován po pěstiteli Státním ústavem pro kontrolu léčiv.

Pro následné *in vitro* testy cytotoxicity na buněčných liniích karcinomů tlustého střeva a jater byly ze sušeného květenství vyrobeny ethanolové extrakty. V extraktech vybraných genotypů byl obsah Δ^9 -THC a CBD velice podobný, proto byl analyzován i jejich terpenický profil. U dvou testovaných genotypů byla prokázána vysoce pozitivně selektivní cytotoxicita oproti ostatním. Lze usuzovat, že látky kterými se tyto genotypy liší, by mohly být zodpovědné za spolupůsobení při inhibici proliferace buněk, ať už jako agonisté, nebo jako antagonisté.

Je nutné zdůraznit, že *in vitro* studie slouží spíše jako vodítko pro preklinické a klinické studie či jako zdroj informací nejen pro pacienty a lékaře. Léčba pomocí konopí a kanabinoidních látek je vysoce individuální záležitostí, neboť každý jedinec má odlišný metabolismus i množství a rozmístění kanabinoidních receptorů, tudíž nelze předpokládat, že by tato léčba byla účinná pro každého pacienta.

Závěrem této práce bych ráda poznamenala, že je pro mě obrovskou ctí, stát u počátku výzkumu léčebného konopí v České Republice a podílet se na něm i nadále. Věřím, že tato studie pomůže nejen pacientům a lékařům alespoň zčásti pochopit tuto výjimečnou léčivou rostlinu.

7 Literární zdroje

- Abrams, D. I. (2016) Integrating cannabis into clinical cancer care. *Curent Oncology* 23. 8-14
- Adam, Z., Krejčí, M., Vorlíček, J., Adamová, Z., Bačovský, J., Bajčiová, V., Bednařík, O., Blatný, J., Büchler, T., Crha, I. (2011) *Obecná onkologie*. Galén. Praha
- Adams, P. (2012) *Weedology/Marihuana – Vše o pěstování konopí*. Positive publishers, La Jolla
- Afoulous, S., Ferhout, H., Raelison, E. G., Valentin, A., Moukarzel, B., Couderc, F., Bouajila, J. (2011) *Helichrysum gymnocephalum* essential oil: Chemical composition and cytotoxic, antimalarial and antioxidant activities, attribution of the activity origin by correlations. *Molecules* 16(10). 8273-8291
- Akutsu, H., Ogata, Y. (1984) High-pressure sodium lamp. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. U.S. Patent No. 4,468,590
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008) Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* 46, 446-475
- Baser, K. H. C., Buchbauer, G. (2010) *Handbook of essential oils science, technology, and applications*. CRC Press, Boca Rato
- Bautista-Baños, S. (2014) *Postharvest decay: Control strategies*. Academic Press, Cambridge
- Benito, C., Núñez, E., Tolón, R. M., Carrier, E. J., Rábano, A., Hillard, C. J., Romero, J. (2003) Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively verexpressed in neuritic plaqueassociated glia in Alzheimer's disease brains. *Journal of Neuroscience* 23 (35). 11136-11141
- Berrea, B. (2012/2013) Tipy a triky: Tvarování rostlin. *Legalizace* 3 (13). 22-24
- Beukes, N., Levendal, R., Frost, C. (2014) Selected terpenoids from medicinal plants modulate endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Journal of Pharmacy* 66 (11). 1505-1525
- Bulánková, I. (2005) *Léčivé rostliny na naší zahradě*. Grada Publishing a. s. Praha
- Burstein, S. (2015) Review: Cannabidiol (CBD) and its analogs. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 23 (7). 1377-1385
- Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223-253
- Capasso, R., Aviello, G., Borrelli, F., Romano, B., Ferro, M., Castaldo, L., Montanaro, V., Altieri, V., Izzo, A. A. (2011) Inhibitory effect of standardized cannabis sativa extract and its ingredient cannabidiol on rat and human bladder contractility. *Urology* 77. 1006-1009.

- Casano, S., Grassi G., Martini V., Michelozzi, M. (2011) Variations in terpene profiles of different strains of *Cannabis sativa* L. *Acta Hhorticulturae* (925).
- Catchpole, O. J., Grey, J. B., Smallfield, B. M. (1996) Near-critical extraction of sage, celery, and coriander seed. *The Journal of Supercritical Fluids* 9. 273-279
- Cervantes, J. (2006) Marijuana Horticulture: The indoor/outdoor medical grower's bible. Van Patten Publishing. Vencouver
- Cianchi, F., Papucci, L., Schiavone, N., Lulli, M., Magnelli, L., Vinci, M. C., Messerini, L., Manera, C., Ronconi, E., Romagnani, P. (2008) Cannabinoid receptor activation induces apoptosis through tumor necrosis Ffactor α -mediated ceramide de novo synthesis in colon cancer cells. *Clinical Cancer Research* 14. 7691-7700
- Decorte, T. (2010) The case for small-scale cannabis cultivation. *Internatiol Journal of Drug Policy* 21. 271-275
- Deiana, V., Gómez-Cañas, M., Pazos, M. R., Fernández-Ruiz J., Asproni, B., Cichero, E., Fossa, P., Muñoz, E., Deligia, F., Murineddu, G., García-Arencibia, M., Pinna, G. (2016) Research paper: Tricyclic pyrazoles. Part 8. Synthesis, biological evaluation and modelling of tricyclic pyrazole carboxamides as potential CB2 receptor ligands with antagonist/inverse agonist properties. *European Journal of Medicinal Chemistry* 112. 66-80
- Devane, W. A., Dysarz, F. A., Johnson, M. R., Melvin, L. S., Howlett, A. C. (1988) Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular Pharmacology* 34, 605-613
- Dupal, L. (1994), *Kniha o marihuaně. MAŤA. Praha*
- Dussy, E. F., Hamberg, C., Luginbühl, M., Schwerzmann, T., Briellmann, A. T. (2005) Isolation of Δ^9 -THCA-A from hemp and analytical aspects concerning the determination of Δ^9 -THC in cannabis products. *Forensic Science International* 149 (1). 3-10
- ElSohly, M. A., Slade D. (2005) Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Science* 78. 539-548
- Eubanks, L. M., Rogers, C. J., Beuscher, A. E. (2006) A molecular link between the active component of marijuana and Alzheimer's disease pathology. *Molecular Pharmaceutics* 3 (6). 773-777
- Fishedick, J. T., Hazekamp, A., Erkelens, T., Choi, Y. H. Et Verpoorte, R. (2010) Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry* 71 (17-18). 2058-73
- Flores-Sanchez, I. J., Peč, J., Fei, J., Choi Young, H., Dušek, J., Verpoorte R. (2009) Elicitation studies in cell suspension cultures of *Cannabis sativa* L. *Journal of Biotechnology* 143 (2). 157-168

- Flores-Sanchez, I. J., Verpoorte R. (2008) Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry Review* 7 (3). 615-639
- Giese, M. W., Lewis, M. A., Giese, L., Smith, K. M. (2015) Method for the analysis of cannabinoids and terpenes in cannabis. *Journal of AOAC International* 98 (6). 1503-1522
- Giuliano, M., Pellerito, O., Portanova, P., Calvaruso, G., Santulli, A., De Blasio, A., Vento, R., Tesoriere, G. (2009) Apoptosis induced in Hep-G2 cells by the synthetic cannabinoid WIN: involvement of the transcription factor PPAR γ . *Biochimie* 91. 457-465
- Grotenhermen, F., Morgan, J. P. (2009) Konopí jako lék: praktický rádce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně. Fontána. Olomouc
- Grotenhermen, F., Russo, E. (2002) Cannabis and cannabinoids. Pharmacology, toxicology, and therapeutic potential. The Haworth Press. New York
- Hanuš, L. O. (2009) Pharmacological and therapeutic secrets of plant and brain (endo)cannabinoids. *Medicinal Research Reviews* 29. 213-271
- Hanuš, L. O. (2012) Endogenní kanabinoidy, receptory, fyziologické role. *Revue České Lékařské Akademie* 8. 8-12
- Hanuš, L. O. (2019) Osobní komunikace. Lumir Lab, Jeruzalém
- Hanuš, L. O., Mechoulam, R. (2005) In: Cannabis as therapeutics. Switzerland: Birkhäuser Basel
- Havrdová, E., Nováková, I. (2012) Kanabinoidy u roztroušené sklerózy. *Revue České Lékařské Akademie* 8 (8)
- Hazekamp, A., (2006) An evaluation of the quality of medicinal grade cannabis in the Netherlands. *Cannabinoids* 1. 1-9
- Hazekamp, A., Fishedick, J. T. (2012) Cannabis – from kultivar to chemovar. *Drug Testing and Analysis* 4. 660-667
- Holland, J., Weil, A., Pollan, M., Grinspoon, L., St.Pierre, A. (2014) Tráva: Kompletní průvodce světem marihuany v medicíně, vědě, kultuře a politice. Praha. Pragma. Praha.
- Hořejší, V., Říhová, B. (2002) Základy imunologie 2. Triton. Praha
- Howlett, A. C., Barth, F., Bonner, T. I., Cabral, G., Casellas, P., Devane, W. A., Felder, C. C., Herkenham, M., Mackie, K., Martin, B. R., Mechoulam, R., Pertwee, R. G. (2002) International union of pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological Reviews* 54 (2). 161-202
- Hřib, R. (2019) Osobní komunikace. Nemocnice u sv. Anny, Brno

Huizer, H., Poortman–van der Meer, A. I. (1995) Report on the yield of indoor cannabis plants. Forensic Laboratory of the Department of Justice, Rijswijk, The Netherlands

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 (8). 1039-1049

Chandra, M., Prakash, O., Kumar, R., Bachheti, R. K., Bhushan, B., Kumar, M., Pant, A. K. (2017) β -selinene-rich essential oils from the parts of *Callicarpa macrophylla* and their antioxidant and pharmacological activities. *Medicines* 4. 52

Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., Di Marzo, V., Mechoulam, R. (2009) Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutical opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Science* 30 (10). 515-527

Izzo, A. A., Camilleri, M. (2009) Cannabinoids in intestinal inflammation and cancer. *Pharmacological Research* 60. 117-125.

Johnson, J. R., Burnell-Nugent, M., Lossignol, D., Ganae-Motan, E. D., Potts, R., Fallon, M. T. (2010) Multicenter, double-blind, randomized, placebocontrolled, 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

Johnson, J., Burnell-Nugent, M., Lossignol, D., Ganae-Motan, E. D., Potts, R., Fallon, M. (2010) Original Article: Multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study of the efficacy, safety, and tolerability of THC. *Journal of Pain and Symptom Management* 39 (2). 167-179

Josephs, D. H., Ross, P. J. (2010) Sorafenib in hepatocellular carcinoma. *British Journal of Hospital Medicine* 71. 451

Kargl, J., Haybaeck, J., Stančić, A., Marche, G., Heinemann, A., Schicho, R. (2012) O-1602, an atypical cannabinoid, inhibits tumor growth in colitis-associated colon cancer through multiple mechanisms. *Journal of Molecular Medicine* 91. 449-458

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

Kubánek, V. (2009) Konopí a mák (pěstování, výroby, legislativa). Tribun EU s.r.o. Brno

Lewis, M. A., Russo, E. B., Smith, K. M. (2018). Pharmacological foundations

- Liauw, M. Y., Natan, F. A., Widiyanti, P., Ikasari, D., Indraswati, N., Soetaredjo, F. E., (2008) Extraction of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) using n-hexane and ethanol: studies of oil quality, kinetic and thermodynamic. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences* 3 (3). 49-54
- Ligresti, A., Moriello, A. S., Starowicz, K., Matias, I., Pisanti, S., De Petrocellis, L., Laezza, Ch., Portella, G., Bifulco, M., Di Marzo, V. (2006) Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 318. 1375-1387
- Mallat, A., Teixeira-Clerc, F., Lotersztajn, S. (2013) Cannabinoid signaling and liver therapeutics. *Journal of Hepatology* 59. 891-896
- Manassero, C. A., Girotti, J. R., Mijailovsky, S., García de Bravo, M., Polo, M. (2012) *In vitro* comparative analysis of antiproliferative activity of essential oil from mandarin peel and its principal component limonene. *Natural Product Research* 27. 1475-1478
- Manniche, L. (1989) *An ancient egyptian herbal*. University of Texas Press. Austin
- Marco, E. M., Viveros, M. P. (2009) The critical role of the endocannabinoid system in emotional homeostasis: avoiding excess and deficiencies. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 9 (12). 1407-1415
- Martin, A. L. (2012) *Smoke signals. A social history of marijuana – Medical, recreational and scientific* . Scribner. New York
- Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., Bonner, T. I. (1990) Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346 (6284). 561-564
- Mechoulam, R. (2012) Cannabis – A valuable drug that deserves better treatment. *Mayo Clinic Proceedings* 87, 107-109
- 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., Hanuš, L. O., (2000) A historical overview a chemical research on cannabinoids. *Chemistry and Physics of Lipids* 108 (2000). 1-13
- Michka, Cervantes, J., Conrad, C., Jansen, A., Mechoulam, R., Guzman, M., Richard, D., Lucas, P., Wirtschafter J.D., D.E., (2015) *Medical cannabis from marijuana to synthetic cannabinoids*. Mama Éditions, Paříž

Miovský, M., Blaha, T., Dědičová, M., Dvořáček, J. Gabrhelík, R., Gabrielová, H., Gajdošíková, H., Hanuš, L. O., Horáček, J., Krménčík, P., Kubů, P., Miovská, L., Ouštěcká-Neradová, A. B., Nerad, J. M., Radimecký, J., Ruman, M., Sivek, V., Šejvl, J., Šulcová, A., Vacek, J., Vopravil, J., Vorel, F., Zábanský, T. (2008) Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium. Grada. Praha

Morgan, C. J., Freeman, T. P., Schafer, G. L., Curran, H. V., (2010). Cannabidiol attenuates the appetitive effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in humans smoking their chosen cannabis. *Neuropsychopharmacology* 35. 1879-1885

Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 65. 55-63

Nahas, G. G., Sutin, K. M., Harvey, D. J., Agurell, S. (1999) Marihuana and medicine. Humana Press. Totowa, New Jersey

Nikan, M., Nabavi, S., Manayi, A. (2016) Review article: Ligands for cannabinoid receptors, promising anticancer agents. *Life Sciences* 146. 124-130

Nuutinen, T. (2018) Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. *European Journal of Medicinal Chemistry* 157. 198-228

Opit, G. P., Nechols, J. R., Margolies, D. C. (2004) Biological control of twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), using *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) on ivy geranium: assessment of predator repase ratios. *Biological kontrol* 29 (3). 445-452

Pacher, P., Mechoulam, R. (2011) Is lipid signaling through cannabinoid 2 receptors part of a protective system? *Progres in Lipid Research* 50. 193-211

Patsos, H. A., Hicks, D. J., Greenhough, A., Williams, A. C., Paraskeva, C. (2005) Cannabinoids and cancer: potential for colorectal cancer therapy. *Biochemical Society Transactions* 33. 712-714

Peč, J. (2013) Konopí aneb THC, CBD, CB1, CB2 atd. *Praktické lékařství* 9 (3). 131-134

Peč, J., Dušek, J., (2009) Konopí, konopná droga a související léčivé přípravky. Praktické lékařství. Solen, s.r.o. Praha

Pellerito, O., Calvaruso, G., Portanova, P., De Blasio, A., Santulli, A., Vento, R., Tesoriere, G., Giuliano, M. (2010) The synthetic cannabinoid WIN 55,212-2 sensitizes hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by activating p8/CCAAT/enhancer binding protein homologous protein (CHOP)/death receptor 5 (DR5) axis. *Molecular Pharmacology* 77. 854-863

Pertwee, R. G. (2007) Cannabinoids and multiple sclerosis. *Molecular Neurobiology* 36. 45-59

- Pertwee, R. G., Howlett, A. C., Abood, M. E., Alexander, S. P. H., Di Marzo, V., Elphick, M. R., Greasley, P. J., Hansen, H. S., Kunos, G., Mackie, K., Mechoulam, R., Ross, R. A. (2010) International union of basic and clinical pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: Beyond CB1 and CB2. *Pharmacology Reviews* 62 (4). 588-631
- Pisanti, S., Borselli, C., Oliviero, O., Laezza, Ch., Gazerro, P., Bifulco, M. (2007) Antiangiogenic activity of the endocannabinoid anandamide: Correlation to its tumor-suppressor efficacy. *Journal of Cellular Physiology* 221. 495-503
- Pollak, K. (1976) *Medicína dávných civilizací*. Orbis. Praha
- Rätsch, Ch. (1992) *KONOPI léčebný prostředek v dějinách lidstva*. Datel. Brno
- Rätsch, Ch. (2012) *Marihuana jako lék: etnomedicína, užívání a recepty na léčení konopím*. Fontána. Olomouc
- Razdan, R. K., Handrick, G. R., Puttick, A. J., Zitko, B. A. (1972) Hashish VI¹: Conversion of (-)- $\Delta^{1(6)}$ - Δ^1 -Tetrahydrokanabinol to (-)- $\Delta^{1(7)}$ - Δ^1 -Tetrahydrokanabinol. Stability of (-)- Δ^1 and (-)- $\Delta^{1(6)}$ - Δ^1 -Tetrahydrokanabinols. *Experientia* 28 (2). 121-122
- Ross, S. A., ElSohly, M. A. (1995) Constituents of Cannabis sativa L. XXVIII. A review of the natural constituents: 1980–1994. *Journal of Pharmaceutical Science* 4 (2). 1-10
- Ruano, J., Sostoa, J. (2016) *Cannabis extractions*. La Canameria Global. Barcelona
- Russo, E. B. (2011) Taming THC: Potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology* 163 (7). 1344-1364
- Russo, E. B. (2019) The case for the entourage effect and conventional breeding of clinical cannabis: No „Strain“, no gain. *Frontiers in Plant Science* 9.
- Russo, E. B., Guy, G. W. (2005) A tale of two cannabinoids: The therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Medical Hypotheses* 66 (2). 234-246
- Russo E. B., Marcu, J. (2017) Cannabis pharmacology: The usual suspect and a few promising leads. *Advanced in Pharmacology* 2017. 71-138
- 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
- Scholl, R. (2002) *Der Papyrus Ebers. Die größte Buchrolle zur Heilkunde Altägyptens*. Schriften aus der Universitätsbibliothek. Leipzig

- Sirikantaramas, S., Ishikawa, Y., Morimoto, S., Shoyama, Y., Tanaka, Y., Taura, F. (2005) Tetrahydrocannabinolic acid synthase, the enzyme controlling marijuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. *Plant Cell Physiology* 46 (9). 1578-1582
- Sreevalsan, S., Safe, S. (2013) Reactive oxygen species and colorectal cancer. *Molecular Biology* 9. 350-357
- Sullivan, N., Elzinga, S., Raber, J. C. (2013) Determination of pesticide residues in cannabis smoke. *Journal of Toxicology* 2013. 1-6
- Szanto, J., Hollo, S., Nyiri, B., Nagel, F. (1989) Metal-halogen discharge lamp with conically shaped insulating elements in outer envelope. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. U.S. Patent No. 4,843,266
- Šulcová, A., (2015) Endokannabinoidní systém a bolest. In: Rokyta, Richard a Cyril Höschl. Bolest a regenerace v medicíně 1. Axonite. Praha
- Terzić, J., Grivennikov, S., Karin, E., Karin, M. (2010) Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* 138. 2101-2114
- Texier, W. (2015) Hydroponie pro každého: Vše o domácím pěstování. Mama Publishing, Paříž
- Thakur, G. A., Duclos, R. I. Jr., Makriyannis, A., (2005) Natural cannabinoids: templates for drug discovery. *Life Sciences* 78 (5). 454-66
- Toonen, M., Ribot, S., Thissen, J. (2006) Yield of illicit indoor cannabis cultivation in The Netherlands. *Journal of Forensic Science* 51. 1050-1054
- 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
- United Nations (2016) The International Drug Control Conventions, Schedules of the Single Convention on Narcotic Drugs of 1961 as amended by the 1972 Protocol, as at 18 May 2016.
- United Nations office on drugs and crime. (2009) Recommended methods for the identifications and analysis of cannabis and cannabis products. United Nations. New York
- Vanhove, W., Surmont, T., Van Damme, P., De Ruyver, B., (2012) Yield and turnover of illicit indoor cannabis (*Cannabis* spp.) plantations in Belgium. *Forensic Science. International* 220. 265-270
- Vanhove, W., Van Damme, P., Meert, N., (2011) Factors determining yield and quality of illicit indoor cannabis (*Cannabis* spp.) production. *Forensic Science International* 212. 158-163

Vara, D., Salazar, M., Olea-Herrero, N., Guzman, M., Velasco, G., Diaz-Laviada, I. (2011) Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. *Cell Death and Differentiation* 18. 1099-1111

Varvel, S. A., Bridgen, D. T., Tao, Q., Thomas, B. F., Martin, B. R., Lichtman, A. H. (2005) Delta-9-tetrahydrocannabinol accounts for the antinociceptive, hypothermic, and cataleptic effects of marijuana in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 314 (1). 329-337

Vobořil, J. (2019) Osobní komunikace, Brno

Wilkinson, J. D., Whalley, B. J., Baker, D., Pryce, G., Constanti, A., Gibbons, S., Williamson, E. M. (2003) Medicinal cannabis: is Δ^9 -tetrahydrocannabinol necessary for all its effects? *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 55. 1687-1694

Wohlfarth, A., Mahler, H., Auwärter V. (2011) Rapid isolation procedur for delta-9-tetrahydrocannabinolic acid A (THCA) from Cannabis sativa using two flash chromatography systems. *Journal of chromatography* 879 (28). 3059-3064

Xi, Z. X., Peng, X. Q., Li, X., Song, R., Zhang, H. Y., Liu, Q. R., et al. (2011). Brain cannabinoid CB2 receptors modulate cocaine's actions in mice. *Nature Neuroscience* 14. 1160-1166

Yang, J. D., Roberts, L. R. (2010) Hepatocellular carcinoma: a global view. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 7. 448-458

Zaami, S., Di Luca, A., Di Luca, N. M., Montaneri Vergallo, G. (2018) Medical use of cannabis: Italian and European legislation. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 22. 1161-1167

Zábranský T., Hanuš L. O., Rokyta R. (2016) Přehled současných znalostí o léčebných účincích konopí a přípravků z něj a jeho perspektiv – 1. část. *Bulletin sdružení praktických lékařů ČR* 26 (6).10-26

7.1 Internetové zdroje

Bedrocan[®]. Dostupné také z: <http://www.bedrocan.nl/>

Ministerstvo zdravotnictví. 2015. 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. Strany 2978-2984 ve Sbírce zákonů České republiky, 2015, částka 98. Dostupné také z: http://www.mzcr.cz/legislativa/dokumenty/vyhlaska-c236/2015-sb-o-stanoveni-podminek-pro-predepisovani-pripravudist_10798_2439_11.html

Poslanecká sněmovna Parlamentu. 1998. Zákon č. 167 ze dne 15. června 1998, o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Strany 6770-6781 ve Sbírce zákonů České Republiky, 1998, částka 57. Dostupné také z: http://www.mzcr.cz/dokumenty/zakon-c-sb_1965_1051_3.html

Poslanecká sněmovna Parlamentu. Zákon č. 50 ze dne 4. března 2013, 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. Strany 367-373 ve Sbírce zákonů České Republiky, 2013, částka 22. Dostupné také z: <http://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?o=6&T=590>

Dolin, B. (2014) National Drug Policy: The Netherlands. Parliament of Canada, 15 srpna 2001. Dostupné také z: <http://www.parl.gc.ca/content/sen/committee/371/ille/library/dolin1-e.htm#INTRODUCTION>

European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2014) Dostupné také z: <http://www.emcdda.europa.eu/topics/pods/legal-supply-of-cannabis>

Gabrielová, H. (2011) Počátky globální prohibice konopí. Občanské sdružení Konopa. Dostupné také z: <http://www.konopa.cz/cs/historie/blog.html>

Hanuš, L. O. (2010) Současné směry ve výzkumu léčby konopím a konopnými látkami, praktické aspekty léčby konopím v Izraeli. Dostupné také z: www.adiktologie.cz/articles/download/2352/hanus-prezentace-pdf

Health Canada (2019) Dostupné také z: <https://www.canada.ca/en/health-canada/topics/cannabis-for-medical-purposes.html>

ProCon.org (2019) Dostupné také z: <https://medicalmarijuana.procon.org/view.resource.php?resourceID=000881>

Státní agentura pro konopí pro léčebné použití (2017) Zadávací dokumentace k veřejné zakázce na dodávky: „Dodávka konopí pro léčebné použití“. Dostupné také z: <https://www.tenderarena.cz/profil/zakazka/seznamDokumentu.jsf?id=90570>

Státní ústav pro kontrolu léčiv (2019). Dostupné také z: <http://www.sukl.cz/konopi-k-lecebny-m-ucelum>

National Institute of Standards and Technology (2018) Vyhledávání dat látek podle chemického názvu. Standard reference data. Dostupné také z: <https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>

Ontario.ca (2019). Dostupné také z: <https://www.ontario.ca/page/cannabis>

8 Seznam a použité zdroje obrázků

Obrázek 1: Rozdíl mezi poddruhy *C. sativa* ssp. *sativa* (vpravo) a ssp. *indica* (vlevo) u mateřských rostlin léčebného konopí pěstovaných v Izraeli společností Better (autorka, 2017)

Obrázek 2: Ředitel Státní agentury pro LK Yuval Landschaft (uprostřed) v jedné z izraelských pěstíren (autorka, 2017)

Obrázek 3: Lékové formy aplikace používané v Izraeli vyráběné společností Cannabliss (autorka, 2017)

Obrázek 4: Příklady kanadských produktů určených k léčebnému (zprava – sušené květenství a olej) i rekreačnímu používání (konopné cigarety), (GETTY IMAGES, 2018, dostupné z: <https://www.fool.com/investing/2018/11/18/the-1-high-risk-marijuana-stock-i-just-bought.aspx>)

Obrázek 5: Přední a zadní strana členské kartičky do jednoho z Konopných společenských klubů v Barceloně (autorka, 2019)

Obrázek 6: Popis genotypu Bedrocan (Jack Herrer – Sensi seeds, Holandsko). Strain Review – Bedrocan by Bedrocan (Harvest Medicine, 2017)

Obrázek 7: Ukázka balení ostatních genotypů produkovaných monopolní společností Bedrocan BV Medicinal Cannabis (Miller, 2018, dostupné z: <https://twitter.com/porters6thforce/status/1014885749055868929>)

Obrázek 8: Jednotlivé vegetační fáze rostlin pěstovaných v indoor podmínkách na FAPPZ (autorka, 2015)

Obrázek 9: Odtahový ventilátor a zásobník na živný roztok s čerpadlem (autorka, 2015).

Obrázek 10: Hydroponický systém s kapilární závlahou (Off-Grid Gorila, 2019, dostupné z: <https://offgridgorilla.com/off-grid-systems/food/hydroculture-hydroponics/>)

Obrázek 11: Hydroponický systém v praxi, kdy je nejčastěji používán jako pěstební medium keramzit (autorka, 2015)

Obrázek 12: Hydroponický systém Nutrient Film Technique, kdy kořeny rostlin prorůstají periodicky zavlažovanou netkanou textilií (Off-Grid Gorila, 2019, dostupné z: <https://offgridgorilla.com/off-grid-systems/food/hydroculture-hydroponics/>)

Obrázek 13: Hydroponický systém v praxi, kdy nosičem rostlin jsou obvykle rockwoolové kostky (autorka, 2015)

Obrázek 14: Aeroponický systém, kdy volně visící kořeny rostlin jsou periodicky zavlažovány tryskami (Off-Grid Gorila, 2019, dostupné z: <https://offgridgorilla.com/off-grid-systems/food/hydroculture-hydroponics/>)

Obrázek 15: Aeroponický systém v praxi, kdy nosičem rostlin je obvykle rockwool v plastových košíčkách (autorka, 2015)

Obrázek 16: Květenství konopí napadené sviluškou chmelovou (Magazín Legalizace, 2015, dostupné z: <http://www.magazin-legalizace.cz/data/resized/files/magazin/32-6-2015/530x0-2915-svilusky1.png>).

Obrázek 17: Listy konopí napadené Třásněnkami (Growweedeasy, 2016, dostupné z: <http://www.growweedeasy.com/sites/growweedeasy.com/files/marijuana-thrips-leafdamage-silvery-spots.jpg>)

Obrázek 18: List konopí napadený molícemi (Growmart, 2016, dostupné z: <http://growmart.cz/nejcastejsi-skudcimolice-sklenikova-trialeurodes-vaporarium/>)

Obrázek 19: Květenství konopí napadené botrytidou (Mandalaseeds, 2016, dostupné z: <http://www.mandalaseeds.com/gfx/cms/images/mold-5.jpg>)

Obrázek 20: Konopí napadené fuzariózou (Mandalaseeds, 2016, dostupné z: <http://www.mandalaseeds.com/gfx/cms/images/mold-7.jpg>)

Obrázek 21: Sušárna na konopí (autorka, 2017)

Obrázek 22: Usušené květenství konopí (autorka, 2017)

Obrázek 23: Homogenizované květenství konopí (autorka, 2017)

Obrázek 24: Hlavní fytoKANABINOIDY a jejich předpokládaná biogeneze (Mechoulam, R., Hanuš, L. O., (2000) A historical overview a chemical research on cannabinoids. *Chemistry and Physics of Lipids* 108. 1-13

Obrázek 25: Ne-psychoaktivní fytoKANABINOIDY a jejich terapeutické účinky (Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., Di Marzo, V., Mechoulam, R. (2009) Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutical opportunities from an ancient herb. *Trends in pharmacological science* 30 (10). 515-527

Obrázek 26: Příklady konopných trichomů (zleva): cystolitické, necystolitické, přisedlé žláznaté a stopkaté žláznaté (UNODC, 2009).

Obrázek 27: Endokanabinoidní receptory CB1 a CB2 a jejich rozložení v lidském organismu (Krása, J. (2019) Jak funguje konopí: Endokanabinoidní systém podrobně. *Roots...časopis s kořeny*. Dostupné z: <https://www.casopisroots.cz/jak-funguje-konopi-endokanabinoidni-system-podrobne/>)

Obrázek 28: „Princip zámku a klíče“, čili mechanismus ligandu a receptoru. (foto z prezentace L. O. Hanuše, která se konala v květnu 2013 na ČZU v Praze a pro FAPPZ byla 1. impulzem začít se věnovat výzkumu léčebného konopí.).

Obrázek 29: Objevitelé endokanabinoidního systému doc. Lumír Ondřej Hanuš (vlevo) a Dr. William Anthony Devane (vpravo), (foto z prezentace L. O. Hanuše, která se konala v květnu 2013 na ČZU v Praze a pro FAPPZ byla 1. impulzem začít se věnovat výzkumu léčebného konopí.).

Obrázek 30: Objevitel Δ^9 -THC Profesor Raphael Mechoulam, Ph.D. (vlevo), Ing. Anežka Janatová a doc. RNDr. Lumír Ondřej Hanuš, Dr.Sc., Dr. h. c. mult. (vpravo), (ProfiPress, 2015)

Obrázek 31: Rozdíly mezi jednotlivými genotypy (autorka, 2016).

Obrázek 32: Senzorická analýza jednotlivých genotypů na Katedře rostlinné výroby FAPPZ ČZU v Praze, (zleva) Andrea Bernardos, Ph.D., Ing. Jitka Nováková, Ph.D. a Ing. Anežka Janatová (Božik, 2015)

Obrázek 33: Ruční sklizeň konopí (autorka, 2017)

Obrázek 34: Květenství konopí připravené k sušení (autorka, 2017)

Obrázek 35: Cytotoxicita extraktů z vybraných genotypů léčebného konopí (průměr \pm s. o.)

9 Seznam a použité zdroje tabulek

Tabulka 1: Přehled států USA, kde je konopí pro léčebné účely dekriminalizováno (dostupné z: <https://medicalmarijuana.procon.org/view.resource.php?resourceID=000881>, 2019)

Tabulka 2: Příloha č. 1 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.: Druhy konopí pro léčebné použití

Tabulka 3: Příloha č. 2 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.: Kritéria pro konopí pro léčebné použití

Tabulka 4: Příloha č. 3 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.: Indikace a specializovaná způsobilost předepisujícího lékaře

Tabulka 5: Extrakční rozpouštědla a jejich stupeň toxicity na lidský organismus (Ruano, J., Sostoa, J. (2016) Cannabis Extractions. La Canameria Global. Barcelona; Sigma Aldrich, dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/czech-republic.html>)

Tabulka 6: Vybrané genotypy konopí a jejich charakteristika (data dostupná z databází: <http://www.tgagenetics.com/>; <https://www.leafly.com/>; <http://en.seedfinder.eu/>)

Tabulka 7: Dávkování anorganických nutrietů a organických aditiv (Advanced Hydroponics s.r.o., Holandsko, dostupné z: <https://www.advancedhydro.com/>).

Tabulka 8: Podmínky analýzy Δ^9 -THC a CBD

Tabulka 9: Podmínky analýzy terpenických látek v konopných extraktech

Tabulka 10: Testované buněčné linie

Tabulka 11: Průměrné výnosy sušeného květenství (g/rostlinu) jednotlivých genotypů v průběhu šesti cyklů.

Tabulka 12: Průměrné obsahy Δ^9 -THC (%) v sušeném květenství jednotlivých genotypů v průběhu šesti cyklů.

Tabulka 13: Průměrné obsahy CBD (%) v sušeném květenství jednotlivých genotypů v průběhu šesti cyklů.

Tabulka 14: Výťažnost extraktů z vybraných genotypů léčebného konopí a jejich obsah Δ^9 -THC a CBD

Tabulka 15: Látky terpenické povahy a jejich relativní % v etanolových extraktech z vybraných genotypů léčebného konopí

Tabulka 16: Index selektivity cytotoxicity extraktů z jednotlivých genotypů léčebného konopí

10 Seznam po užitých zkratk

2-AG – 2-arachidonoylglycerol

AEA – N-arachidonylethanolamin

AH – Advanced Hydroponics

ANOVA – analýza rozptylu

ARA-S – N-arachidonoyl serin

ATCC – American Type Culture Collection

ATCC 46-X – Hybri-Care Medium

CA – Kanada

Caco-2 – lidské epiteliální buňky kolorektálního adenokarcinomu

CB1 – centrální kanabinoidní receptor

CB2 – periferní kanabinoidní receptor

CB3 s označením GRP55 – typ endokanabinoidního receptoru

CBC – kanabichromen

CBCA – kyselina kanabichromenová

CBD – kanabidiol

CBDA – kyselina kanabidiolová

CBDV – kanabidivarin

CBE – kanabielsoin

CBG – kanabigerol

CBGA – kyselina kanabigerolová

CBL – kanabicyklol

CBN – kanabinol

CBND – kanabinodiol

CBT – kanabitriol

CCD-18Co – linie normálních střevních buněk

CK – Conspiracy Kush

Cl – chlor

CNS – centrální nervová soustava

CO₂ – oxid uhličitý

Ca₂⁺ – rostlinám přístupná forma vápníku

COOH – karboxylová skupina

CSC – konopné společenské kluby

Cu⁺ – rostlinám přístupná forma mědi

Cu₂⁺ – rostlinám přístupná forma mědi

ČR – Česká Republika

DMEM – Dulbecco Modified Egles Medium

DMSO – dimethylsulfoxid

E – intenzita osvětlení

EC – elektrická vodivost

EGF – epidermální růstový faktor

EMCDDA – European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction

EMEM – Eagle's Minimum Essential Medium

ER – endokanabinoidní receptory

EU – Evropská unie

FAPPZ ČZU – Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze

FBS – fetální bovinní sérum

Fe₂⁺ – rostlinám přístupná forma železa

Fe₃⁺ – rostlinám přístupná forma železa

FHs 74 Int – lidské epiteliální buňky tenkého střeva

GC – plynová chromatografie

GC-FID – plynová chromatografie s plamenově-ionizačním detektorem

GC-MS – plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

H₂BO₃ – dihydrogenboritan

H₂PO₄ – dihydrogenfosforečnan

H₃PO₄ – kyselina fosforečná

Hep-G2 – lidské epiteliální buňky hepatokarcinomu

HNO₃ – kyselina dusičná

HPLC – vysoko-účinná kapalinová chromatografie

HPO₄ – fosforečnan

HPS – vysokotlaká sodíková výbojka

HS – hydroponický systém

HT-29 – lidské epiteliální buňky kolorektálního adenokarcinomu

IC₅₀ – minimální inhibiční koncentrace

JB – Jilly Bean

JC 2 – Jack Cleaner 2

JS – Jack Skellington

K – kelvin

KOH – hydroxid draselný

LED – light-emitting diode

LK – léčebné konopí

lm – lumen

lx – lux

MD – Doktor medicíny

MH – metal-halogenidová výbojka

MJ – měrná jednotka

Mn²⁺ – rostlinám přístupná forma manganu

MoO₄ – molybdenan

MRC-5 – lidské plicní fibroblasty

MTT – 3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid

MZ ČR – Ministerstvo zdravotnictví České Republiky

N – Nordle

NADA – N-arachidonoyl-dopamin

NFT – Nutrition Film Technique

NH₄⁺ – rostlinám přístupná amonná forma dusíku

NHS – National Health Service

NIST – National Institute of Standards and Technology

NJ – Nurse Jackie

NO₃⁻ – rostlinám přístupná nitrátová forma dusíku

O₂ – kyslík

OSN – Organizace spojených národů

PBS – fosfátový pufr

PC – pěstební cyklus

pH – potenciál vodíku

RI – retenční index

RK – rekreační konopí

RS – roztroušená skleróza

s. o. – směrodatná odchylka

SAKL – Státní agentura pro konopí pro léčebné použití

Sat/Ind – poměr sativa a indica v genotypu konopí

SI – index selektivity

SÚKL – Státní ústav pro kontrolu léčiv

TBA – Tribenzylamin

THCA – kyselina tetrahydrokanabinolová

THCV – tetrahydrokanabidivarin

TLC – tenkovrstvá chromatografie

UN – United Nations

UNCOD – United Nations office on drugs and crime

USA – Spojené státy americké

VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor

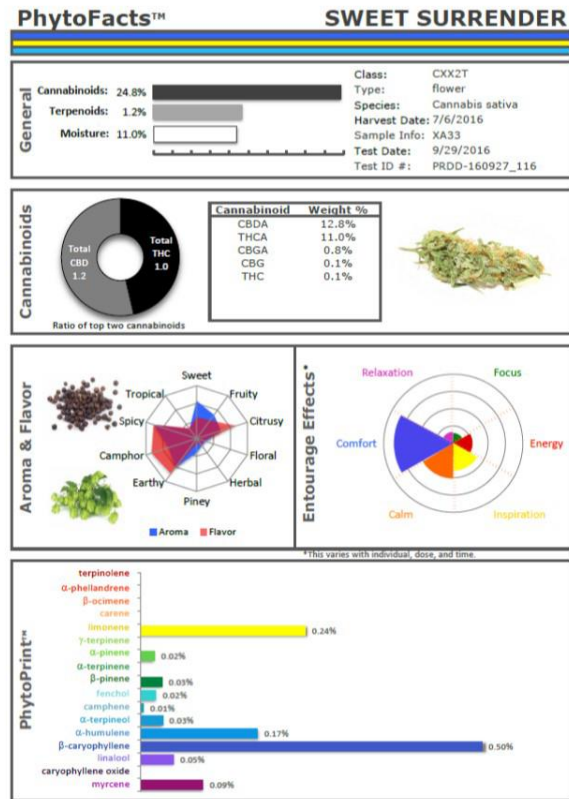
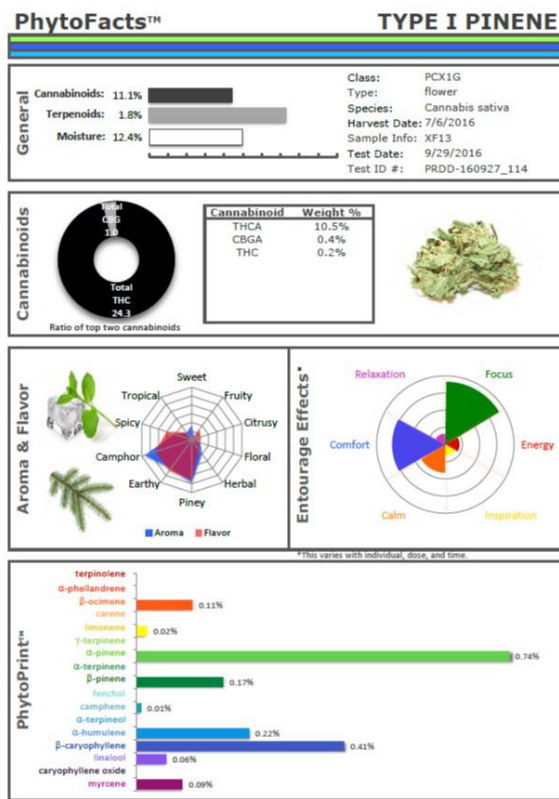
WIN-55 – označení pro syntetický kanabinoid

Zn²⁺ – rostlinám přístupná forma zinku

Δ⁹-THC – delta-9-tetrahydrokanabinol

Přílohy

Příloha 1: Popis pinenového Typu I a popis karyofylenového Typu II




Russo E. B., Marcu, J. (2017) Cannabis pharmacology: The usual suspect and a few promising leads. *Advanced in Pharmacology* 2017. 71-138

Příloha 2: Relevantní studie popisu šesti genotypů konopí, vhodného zejména pro léčebné použití

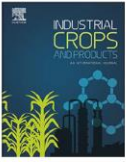
Industrial Crops & Products 112 (2018) 363–367

Contents lists available at ScienceDirect



Industrial Crops & Products


journal homepage: www.elsevier.com/locate/indcrop



Yield and cannabinoids contents in different cannabis (*Cannabis sativa* L.) genotypes for medical use

Anežka Janatová^a, Adéla Fraňková^b, Pavel Tlustoš^c, Karel Hamouz^a, Matěj Božik^b, Pavel Klouček^{b,*}

^a Czech University of Life Sciences, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Department of Crop Science, Kamýcka 129, 16500, Prague, Czech Republic
^b Czech University of Life Sciences, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Department of Quality of Agricultural Products, Kamýcka 129, 16500, Prague, Czech Republic
^c Czech University of Life Sciences, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Department of Agroenvironmental Chemistry and Plant Nutrition, Kamýcka 129, 16500, Prague, Czech Republic



ARTICLE INFO

Keywords:
Medical cannabis
Genotypes
Cultivation
Delta-9-tetrahydrocannabinol
Cannabidiol
Yield
Hemp

ABSTRACT

In the last decades, there has been a significant increase in the number of lifestyle and auto-immune diseases, such as various cancers or multiple sclerosis. In countries where cannabis is decriminalized for medical purposes, it is most often prescribed for these diagnoses. Today, over 700 different cannabis genotypes are being bred, and it is very important to describe in detail their cultivation, potential yields, chemical profile and stability, to be recommended to a particular patient with a specific diagnosis. The aim of this study was to evaluate the inflorescence yields and the content of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) and cannabidiol (CBD) of seven traditional genotypes of cannabis – Conspiracy Kush, Nurse Jackie, Jilly Bean, Nordle, Jack Cleaner 2, Jack Skellington and National Health Services. The plants were grown under controlled climatic conditions during six growing cycles at a density of 9 plants/m². Dried inflorescences from each plant were homogenized and analyzed by gas chromatography with flame ionization detection. The average yield per plant was 21.02 ± 3.33 g and the highest yields showed genotype Nurse Jackie (24.74 ± 6.11 g). The lowest yields were shown by genotype Jack Skellington (15.41 ± 4.02 g). Average Δ^9 -THC levels for each variety in all 6 growing cycles ranged from 15.69 ± 2.6 % to 19.31 ± 2.47 % (w/w). The lowest contents of Δ^9 -THC were measured in the Nordle genotype and the highest values were found in the Jack Cleaner 2 and Jack Skellington genotypes. Average CBD levels in the plants ranged from 0.45 ± 0.1 % to 0.57 ± 0.08 % (w/w) over six individual cycles. This study shows that among genotypes studied, the best parameters – high yield and stable cannabinoids production – are shown by genotypes Nurse Jackie and Jilly Bean.

Příloha 3: Enkapsulace terpenických látek z rostlin do křemičitých nanomateriálů, za účelem prodloužení času jejich cíleného účinku

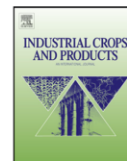
Industrial Crops and Products 67 (2015) 216–220



Contents lists available at ScienceDirect

Industrial Crops and Products

journal homepage: www.elsevier.com/locate/indcrop



Short communication

Long-term antifungal activity of volatile essential oil components released from mesoporous silica materials



Anezka Janatova^{a,b}, Andrea Bernardos^a, Jakub Smid^a, Adela Frankova^a, Miloslav Lhotka^c, Lenka Kourimská^b, Josef Pulkrabek^a, Pavel Klouček^{b,*}

^a Department of Crop Production, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, Prague 6-Suchdol, 165 21, Czech Republic

^b Department of Quality of Agricultural Products, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, Prague 6-Suchdol, 165 21, Czech Republic

^c Department of Inorganic Technology, Faculty of Chemical Technology, Institute of Chemical Technology Prague, Technická 1905/5, Praha 6-Dejvice, 166 28, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 August 2014
Received in revised form
22 December 2014
Accepted 10 January 2015
Available online 5 February 2015

Keywords:

Desorption
Reinoculation
Aspergillus niger
Encapsulation
Plant volatiles
Antimicrobial effect
Controlled release

ABSTRACT

Antimicrobial volatile substances from plants have become known as a suitable alternative to synthetic pesticides and food preservatives. The study tested the antifungal activity against *Aspergillus niger* of seven volatile essential oil components from plants—allyl isothiocyanate, carvacrol, cinnamaldehyde, diallyl disulfide, eugenol, thymol, and thymoquinone. To provide long-term effects by controlled release and ease of application, these substances were encapsulated into mesoporous silica material MCM-41 and then compared to the effects of pure substances. Significant antifungal activity was verified in five out of the seven tested substances. These results were correlated with the evaporation rate of pure and encapsulated substances. It has been proven that by encapsulating selected volatiles, excluding sulfur compounds, their long-term effectiveness is ensured by controlled release and easy handling, with positive effects for their antifungal activity.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.