



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**VYUŽITÍ EXTRAKTŮ Z TECHNICKÉHO KONOPÍ PŘI
PŘÍPRAVĚ KOSMETICKÝCH VÝROBKŮ PROTI AKNĚ**

USING OF CANNABIS EXTRACTS FOR THE ACNE PREPARATION OF COSMETIC PRODUCTS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Lenka Pelánová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1455/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Lenka Pelánová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Využití extraktů z technického konopí při přípravě kosmetických výrobků proti akné

Zadání bakalářské práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

1) literární rešerše týkající se:

- charakterizace konopí, možnosti využití různých částí rostliny, obsahu aktivních látek
- problematiky tvorby akné a aktivních látek používaných v boji proti akné

2) stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí konopí

3) návrh a testování konkrétního kosmetického výrobku proti akné s obsahem aktivních látek z konopí

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Lenka Pelánová
student(ka)

Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Konopí patří díky svému velkému obsahu látek mezi významné rostliny vykazující léčebné účinky. Tato bakalářská práce se zabývá využitím konopí v kosmetice proti akné. V teoretické části je popsána charakterizace konopí a jeho aktivních látek. Další kapitoly se věnují akné a bakterii *Propionibacterium acnes*, která se na jeho průběhu podílí. V experimentální části byly použity extrakty dvou odrůd konopí setého (Ferimon a Carmagnola), u nichž byl sledován obsah antioxidantů a kanabinoidů. Dále byly vyrobeny kosmetické přípravky s obsahem konopných extraktů a byly pořízeny i komerční produkty. U extraktů i kosmetických přípravků byl pozorován jejich inhibiční účinek proti *Propionibacterium acnes*. Dále byl testován i *Micrococcus luteus*, *Candida glabrata* a *Escherichia coli*. Z dosažených výsledků vyplývá, že největší množství aktivních látek obsahují extrakty sušeného květu. Konopné extrakty působily proti gram pozitivním bakteriím, u kosmetických přípravků byl účinek minimální nebo žádný.

Klíčová slova:

konopí, kanabinoidy, aktivní látky, akné, *Propionibacterium acnes*

Abstract

Hemp belongs among important plants with therapeutic effects thanks to its high content of substances. This bachelor thesis brings information about the use of hemp in acne preparations. The theoretical part of this thesis focuses on the characterization of hemp and its active substances. The next chapters deal with acne and *Propionibacterium acnes*, which is involved in the course. For the experimental part, the extracts of two hemp varieties (Ferimon and Carmagnola) were characterized in terms of antioxidant and cannabinoid presence. The cosmetic preparations with hemp extract content were prepared and commercial products were purchased too. In both the extracts and the cosmetic preparations, their inhibitory effect against *Propionibacterium acnes* was observed. *Micrococcus luteus*, *Candida glabrata* and *Escherichia coli* were also tested. The results show that dried hemp flower extracts contain the largest amount of active substances. All hemp extracts had effect against gram-positive bacteria, in cosmetic preparations it was minimal effect or no effect.

Keywords:

hemp, cannabinoids, active substances, acne, *Propionibacterium acnes*

PELÁNOVÁ, Lenka. *Využití extraktů z technického konopí při přípravě kosmetických výrobků proti akné* [online]. Brno, 2019 [cit. 2019-05-19]. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/113478>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce Ing. Andree Háronikové, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, čas a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat Bc. Radce Puškárové za pomoc nejen při řešení experimentální části. V neposlední řadě patří velké díky mé rodině za finanční zázemí, projevenou podporu a trpělivost a mému příteli za veškerou podporu během celého studia.

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Konopí	8
2.1.1	Historie	8
2.1.2	Legislativa v ČR	8
2.2	Botanická charakterizace konopí	8
2.2.1	Taxonomické zařazení	8
2.2.2	Morfologická charakteristika	9
2.2.3	Morfologické rozdělení	9
2.2.3.1	<i>Konopí seté (Cannabis sativa)</i>	10
2.2.3.2	<i>Konopí indické (Cannabis indica)</i>	10
2.2.3.3	<i>Konopí rumištní (Cannabis ruderalis)</i>	11
2.3	Chemické složení	11
2.3.1	Kanabinoidy	11
2.3.2	Nekanabinoidní složky	12
2.3.2.1	<i>Flavonoidy</i>	12
2.3.2.2	<i>Terpeny</i>	12
2.4	Využití konopí	13
2.5	Kůže	13
2.5.1	Pokožka (<i>epidermis</i>)	14
2.5.2	Škára (<i>dermis, corium</i>)	14
2.5.3	Podkožní tkáň (<i>tela subcutanea</i>)	15
2.6	Testované organismy	15
2.6.1	<i>Escherichia coli</i>	15
2.6.2	<i>Micrococcus luteus</i>	15
2.6.3	<i>Candida glabrata</i>	15
2.6.4	<i>Propionibacterium acnes</i>	16
2.7	Akné	16
2.7.1	Vznik a průběh akné	17
2.7.2	Léčba akné	17
2.7.2.1	<i>Místní terapie</i>	17
2.7.2.2	<i>Celková (systémová, vnitřní) léčba</i>	18
2.7.2.3	<i>Další možnosti individuálně doplňující léčbu akné</i>	18
2.7.3	Vliv aktivních látek konopí na léčbu akné	18
2.8	Použité metody k analýze	19
2.8.1	Extrakce	19
2.8.2	UV-VIS spektrofotometrie	19
2.8.3	Chromatografie	19
2.8.4	Difuzní agarový test	20
2.8.5	Diluční jamkový test	20
3	CÍL PRÁCE	21
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22

4.1	Použité chemikálie a přístroje.....	22
4.1.1	Chemikálie.....	22
4.1.2	Přístroje.....	23
4.2	Použité mikroorganismy.....	23
4.3	Použité odrůdy konopí.....	24
4.4	Příprava konopných vzorků.....	24
4.4.1	Extrakty	24
4.4.2	Pleťový krém s obsahem konopné složky	25
4.4.3	Peeling s obsahem konopné složky	26
4.4.4	Zakoupené konopné přípravky	26
4.4.4.1	<i>Extra výživný pleťový krém</i>	26
4.4.4.2	<i>Pleťový peeling Bio Cannabis</i>	27
4.5	Stanovení celkových polyfenolů	27
4.6	Stanovení celkových flavonoidů	27
4.7	Stanovení celkové antioxidační aktivity.....	28
4.8	Stanovení obsahu kanabinoidů pomocí HPLC.....	28
4.9	Stanovení antimikrobiální aktivity	29
4.9.1	Difuzní agarový test.....	29
4.9.2	Diluční jamkový test.....	29
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	30
5.1	Stanovení celkových polyfenolů	30
5.2	Stanovení celkových flavonoidů	31
5.3	Antioxidační aktivita	33
5.4	Obsah kanabinoidů	34
5.5	Antimikrobiální aktivita	37
5.5.1	Extrakty	37
5.5.1.1	<i>Escherichia coli</i>	37
5.5.1.2	<i>Micrococcus luteus</i>	38
5.5.1.3	<i>Candida glabrata</i>	38
5.5.1.4	<i>Propionibacterium acnes</i>	39
5.5.2	Kosmetické přípravky.....	40
5.5.2.1	<i>Escherichia coli</i>	40
5.5.2.2	<i>Micrococcus luteus</i>	42
5.5.2.3	<i>Candida glabrata</i>	43
5.5.2.4	<i>Propionibacterium acnes</i>	45
6	ZÁVĚR.....	47
7	LITERATURA	49
8	SEZNAM ZKRATEK.....	51
9	PŘÍLOHY	52

1 ÚVOD

Historie konopí sahá několik tisíc let zpět do oblasti střední Asie. Má mnohostranné využití, neboť nachází uplatnění nejen v průmyslu pro výrobu kvalitního vlákna, ale díky obsahu biologicky aktivních látek má také velké využití v kosmetice a farmacii. Semínka konopí nacházejí uplatnění v potravinářství díky vysokému obsahu mastných kyselin.

V konopí byla objevena skupina strukturně podobných sloučenin označována jako kanabinoidy. Právě tato skupina látek má podíl na léčivých účincích konopí. Zároveň má ale účinky psychoaktivní, čehož je zneužíváno k přípravě drogy. Psychoaktivní účinek je přiřazen skupině tetrahydrokanabinoidů. Nejznámějším a nejvýznamnějším zástupcem této skupiny je Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC). Bylo tedy vyšlechtěno konopí technické s nízkým obsahem Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC), jehož množství v dané rostlině je dáno zákonem, ale zároveň si zanechává léčivé účinky.

Propionibacterium acnes je grampozitivní bakterie, která má vliv na rozvoj akné. Toto onemocnění postihne převážnou většinu lidí alespoň jednou za život. Jednou z možností léčby je právě využití kosmetických přípravků s obsahem konopí, přičemž se nejčastěji využívá konopný extrakt nebo olej.

Předložená bakalářská práce se zabývá charakterizací konopí z hlediska obsahu aktivních látek a jeho využití do kosmetických přípravků proti akné. V experimentální části byly použity dvě odrůdy technického konopí (Ferimon a Carmagnola). U konopných extraktů byl stanoven obsah aktivních látek (antioxidantů a kanabinoidů) a jejich antimikrobiální aktivita. U kosmetických přípravků byla zkoumána jejich antimikrobiální aktivita.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Konopí

Konopí je jednoletá rostlina, která podle odrůdy a růstových podmínek dosahuje různé výšky. Pěstuje se téměř výhradně ze semen. Je široce rozšířená, což je způsobeno její vysokou schopností adaptace [1,2].

2.1.1 Historie

Nejstarší zmínky o používání *Cannabis* pocházejí z doby před sedmi tisíci lety ve staré Babylonii. Avšak nejvíce se pěstovalo a všestranně využívalo v Číně. Dlouhé a pevné vlákno ze stonku se uvolňovalo poměrně jednoduchými technologiemi a využívalo se k výrobě oděvů, sítí a lan. Číňané ale nevyužívali pouze vlákno. Konopná semena patřila k nejpoužívanějšímu zrní. Jako potrava se využívalo až do 2. století př. n. l., pak bylo nahrazeno chutnějšími a produktivnějšími obilninami. Číňané se naučili ze semen lisovat cenný olej, který se používal na vaření či výrobu mýdla. Po lisování zbylý koláč se stal výživným krmivem pro domácí zvířata. Do Evropy se konopí dostalo severní cestou 2800 let př. n. l. díky Skytům. Konopné vlákno se stalo hlavní plodinou v historii téměř každé země. Již na konci 19. století se začaly objevovat snahy o regulaci obchodu s opiáty a konopnými drogami. Odrůdy konopí s velmi nízkým obsahem THC se podařilo vyšlechtit v polovině 80. let 20. století [1,3,4].

2.1.2 Legislativa v ČR

Podle zákona č. 167/1998 Sb. o návykových látkách je povoleno v České republice pěstování technického konopí do obsahu THC 0,3 % a to do celkové plochy 100 metrů čtverečních bez ohlášení.

Pěstovat konopí s vyšším obsahem THC (pro léčebné účely) může pouze právnická nebo podnikající fyzická osoba, které byla udělena licence Státním úřadem pro kontrolu léčiv [5].

2.2 Botanická charakterizace konopí

2.2.1 Taxonomické zařazení

Za první oficiální botanický popis konopí je považován ten od švédského botanika Carla Linného. Ten našel konopí v roce 1737 při putování po Indii v podhůří Himaláje a nazval ho *Cannabis sativa* (konopí seté). Věřil, že našel jediný druh tohoto rodu. V roce 1785 však pojmenoval a popsal francouzský biolog Jean Baptiste de Lamarck jiný druh *Cannabis indica* (konopí indické). Třetí druh pak v roce 1924 objevil Dmitrij E. Janiševskij v jihovýchodním Rusku. Šlo o *Cannabis ruderalis* (konopí rumištní). Konopí je zařazeno do čeledi konopovité (*Cannabaceae*). Tuto čeleď sdílí konopí pouze s jedním dalším rodem, a tím je chmel. Tato botanická příbuznost má jeden zásadní rozdíl, neboť pryskyřičná látka produkovaná chmelem neobsahuje kanabinoidy [1,2,3].

Říše:	rostliny (<i>Plantae</i>)
Podříše:	cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
Oddělení:	krytosemenné (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída:	vyšší dvouděložné (<i>Rosopsida</i>)
Řád:	růžotvaré (<i>Rosales</i>)
Čeleď:	konopovité (<i>Cannabaceae</i>)
Rod:	konopí (<i>Cannabis</i>)
Druhy:	seté (<i>Sativa</i>) indické (<i>Indica</i>) rumištní (<i>Ruderalis</i>)

Obrázek 1: Botanická klasifikace konopí [3] - upraveno

2.2.2 Morfologická charakteristika

Konopí je jednoletá dvoudomá rostlina, což znamená, že tvoří na jedné rostlině samičí a na druhé samčí květenství. Samčí rostliny jsou často štíhlejší, vyšší a dříve kvetou. V samičích květech pak dozrávají semena. Vyskytují se i jednodomé rostliny, které jsou hospodářsky nejvíce využívány. Byly vyšlechtěny v 70. letech 20. století. Pěstování jednodomých rostlin umožňuje zajistit rovnoměrné opylení květů a tím i vyrovnanou produkci semene, protože u jednodomých odrůd se samičí i samčí květenství vyskytuje na jedné rostlině.

Konopí má kořen kolmý, křivý a široce větvený. Hlavní kořen může být až metr dlouhý, vlásečnicové kořínky jsou nepostradatelné pro výživu a vývoj rostliny. U dvoudomých odrůd bývá kořen samčí rostliny méně vyvinutý než u rostlin samičích.

Stonek konopí je přímá lodyha, která dorůstá až šesti metrů. Jeho síla se pohybuje od 3 do 60 mm. Lodyha je čtyř až šestihránná a pokrytá drobnými chloupky. Zelená barva stonku přechází v období plného růstu do citrónově zelené až hnědé barvy. Vnitřek je dutý s dřevnatým jádrem. Konopné vlákno patří mezi nejdelší a nejpevnější vlákno v rostlinné říši.

Listy jsou sytě zelené, dlanitě složené, tři až třináctičetné. Konopný stonk je odspodu až po květenství osazen listy vstřícně, přičemž v květenství je jejich osazení hustější.

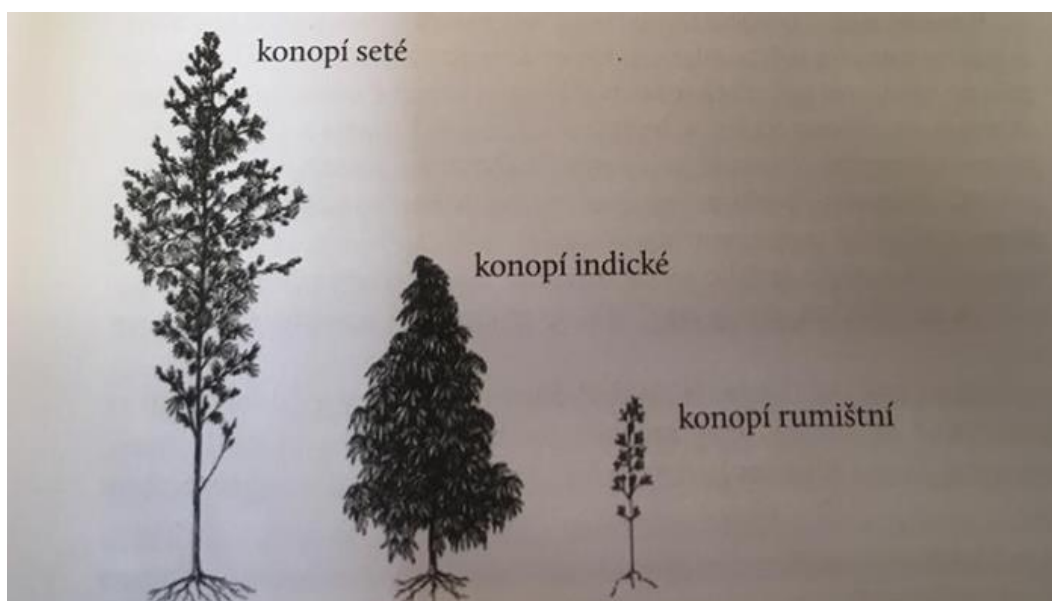
Květy samčích rostlin vyrůstají v úžlabí květů a v době plného květu vytvářejí velké množství pylu. Vítr ho dokáže roznést až do vzdálenosti 12 km. Samčí rostliny kvetou 20 až 25 dní a po uvolnění pylu odumírají. Samičí květy jsou rozloženy v horní části rostliny. Samičí rostliny začínají kvést o 3 až 10 dní později než samčí. Nezávisle na opylení mohou růst další 2 až 5 měsíců.

Plodem je vejčitá jednosemenná nažka neboli semeno. Jeho velikost se pohybuje od 2 do 5 mm. Barva konopného semene je šedo-zelená, tmavohnědá až černá s jemným mramorováním [2,3,6].

2.2.3 Morfologické rozdělení

V rodu konopí (*Cannabis*) rozlišujeme tři hlavní druhy (viz Obrázek 2). Pro hospodářské účely se pěstuje takřka výhradně konopí seté. Rozdíly mezi jednotlivými

druhy postupně vedly k tomu, že některé byly vyšlechtěny pro výrobu vláken, zatímco jiné jsou vhodnější pro získání kanabinoidů [4,6].



Obrázek 2: Tři základní druhy konopí [3]- upraveno

2.2.3.1 Konopí seté (*Cannabis sativa*)

Konopí seté je nejrozšířenějším druhem konopí pocházející ze střední Asie. Dosahuje výšky až 6 metrů, rostlina je štíhlá s řidšími listy světle zelené barvy. Roste hlavně v mírném klimatickém pásu. Podle typu podnebí lze konopí seté dále rozlišit do čtyř skupin: severní, středoruské, jižní a středoevropské. V České republice se pěstují především odrůdy středoruské a středoevropské [2,3,4].



Obrázek 3: Konopí seté [31]- upraveno

2.2.3.2 Konopí indické (*Cannabis indica*)

Konopí indické dorůstá výšky 1,5 m. Je to keřovitá rostlina, značně se větví hned od spodu. Listy jsou velké a tmavě zelené s hustým květenstvím. Vyskytuje se především v tropických a subtropických oblastech. Pro evropské zemědělství nemá hospodářský význam, v Asii roste divoce, nebo se pěstuje pro pryskyřici v Indii, Afghánistánu, Iránu, Turecku a severní Africe. V našich klimatických podmínkách se obsah THC pohybuje od 1,5 % - 9 %. V České republice je jeho pěstování zakázáno [2,3,4,7].



Obrázek 4: Konopí indické [31] – upraveno

2.2.3.3 Konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*)

Rostlina dorůstá do výšky kolem 1 metru. Stonek je tenký, slabě vláknitý aolistěný. Jedná se plevelnatý druh, který roste planě v ruských tundrách a tajgách. Konopí rumištní je odolné vůči škůdcům a nemocem a nenáročné na půdu a podnebí. Jeho význam tkví hlavně při křížení nových odrůd [2,3,7].



Obrázek 5: Konopí rumištní [31] - upraveno

2.3 Chemické složení

V současné době bylo popsáno 483 sloučenin, které můžeme v konopí nalézt. Většina z nich patří k látkám běžně rozšířených v živých organismech. Jedná se o primární i sekundární metabolity. Konopí obsahuje aminokyseliny, sacharidy, proteiny, jednoduché kyseliny, amidy, aminy, kvartérní báze, aldehydy, ketony, alkoholy, estery, laktony, vitaminy, pigmenty, uhličitany, terpeny, steroidy a další. Kromě těchto běžných látek se v konopí nachází specifické látky zvané kanabinoidy [7,8].

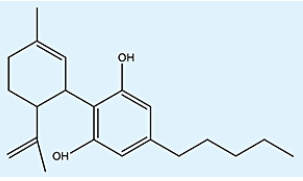
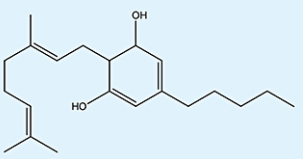
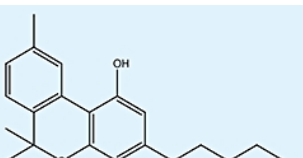
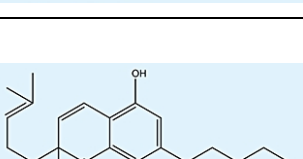
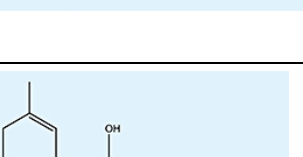
2.3.1 Kanabinoidy

Kanabinoidy jsou fenolické látky, které patří mezi sekundární metabolity. Konopí je ve světě rostlin jediný známý rod, který produkuje tyto chemické látky. Je známo přes 100 různých kanabinoidů. Jejich chemická struktura je velice podobná, základem je resorcinolový kruh. Původně existují kanabinoidy ve formě svých kyselin. Při sušení pak dochází k dekarboxylaci. Kyseliny kanabinoidů nejsou psychoaktivní, ale některé z nich působí protizánětlivě [6,8,9].

Mezi nejvýznamnější a nejdůležitější typy kabanoidů patří Delta-9-THC, Kanabigerol (CBG), Kanabichromen (CBC), Kanabidiol (CBD), Kanabinol (CBN)

a Tetrahydrokanabivarin (THCV). Většinou se v jedné rostlině nachází tři až 4 typy kanabinoidů v relevantní koncentraci a ostatní pouze ve stopovém množství nebo vůbec [8].

Tabulka 1: Nejvýznamnější typy kanabinoidů [9,10]- upraveno

STRUKTURA	NÁZEV	VLASTNOSTI
	kanabidiol (CBD)	analgetický, antioxidant, antibiotický, protiplísňový
	kanabigerol (CBG)	antifungální, analgetický, sedativní, cytotoxický pro karcinogenní buňky
	kanabinol (CBN)	protizánětlivý, stimuluje nábor buněk v kostní dřeni, inhibice
	kanabichromen (CBC)	antifungální, analgetický, protizánětlivý, sedativní, antibiotické, cytotoxický pro karcinogenní buňky
	Δ^9- tetrahydrokanabinol (THC)	psychoaktivní, antioxidant, protizánětlivý, proti svědění

2.3.2 Nekanabinoidní složky

2.3.2.1 Flavonoidy

V konopí se vyskytuje asi 21 různých flavonoidů a většinu z nich najdeme i v jiných rostlinách. Jejich úkolem je chránit rostlinu před škodlivými účinky ultrafialového záření nebo slouží jako barvivo. Mezi flavonoidy vyskytující se v konopí patří např. apigenin a cannaflavin A, které působí protizánětlivě. Silným antioxidantem je např. quercetin, který má za úkol chránit buňky před škodlivým působením volných radikálů [8,11].

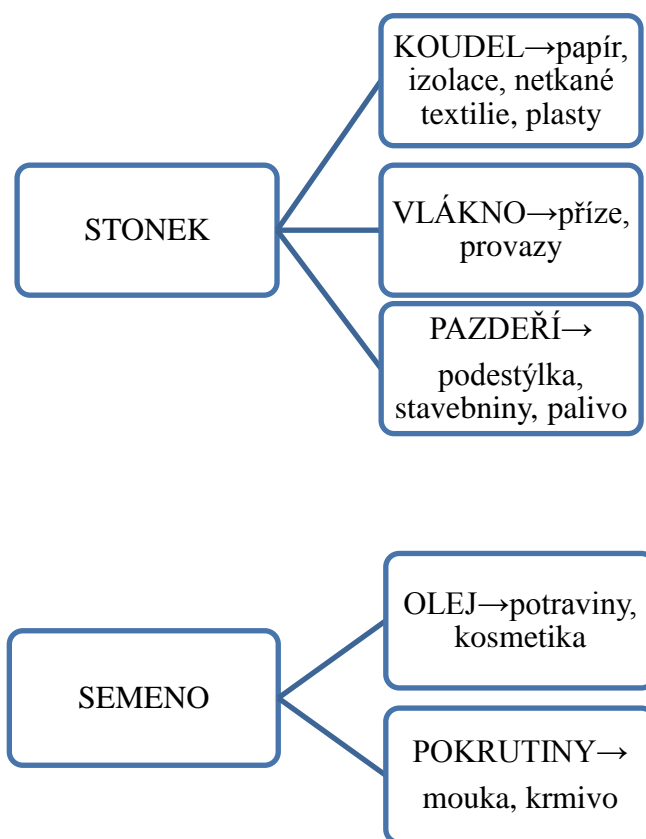
2.3.2.2 Terpeny

Terpeny tvoří největší skupiny rostlinných látek. V konopí jich bylo identifikováno více než 100. Jsou zodpovědné za aroma různých druhů. Terpeny se skládají z izoprenových jednotek a podle jejich počtu se dělí na monoterpeny s 10 uhlíky, seskviterpeny s 15 uhlíky a triterpeny s 30 uhlíky. Jejich obsah a distribuce v rostlině závisí na mnoha

parametrech, hlavně růstových podmínkách a zralosti rostliny. V rostlině konopí dominují monoterpeny, které byly detekovány v květu, listu i kořenu. Hlavními zástupci jsou D-limonen, β -myrcen, α - a β -pinen, terpinolen a linalool. Během růstu při standardních podmínkách byla zjištěná pozitivní korelace kanabinoidů s terpeny, což může být způsobeno tím, že mono- a seskviterpeny jsou syntetizovány ve stejných žláznových trichomech jako kanabinoidy [11].

2.4 Využití konopí

Již v historii mělo konopí opravdu široké využití. Konopné vlákno je pevné, trvanlivé odolné a biologicky rozložitelné. Těchto vlastností se využívalo k výrobě stavebních, textilních a papírenských výrobků. Postupem času, kdy byly objevovány jeho blahodárné účinky, se začalo konopí využívat jako léčebný a kosmetický prostředek. Pěstování konopí je oproti pěstování jiných rostlin ve vztahu k životnímu prostředí výjimečně šetrné. Příkladem může být jeho kořenový systém, který prorůstá do značné hloubky, provzdušňuje půdu, zvyšuje její schopnost zadržovat vodu a zabraňuje erozi [4].

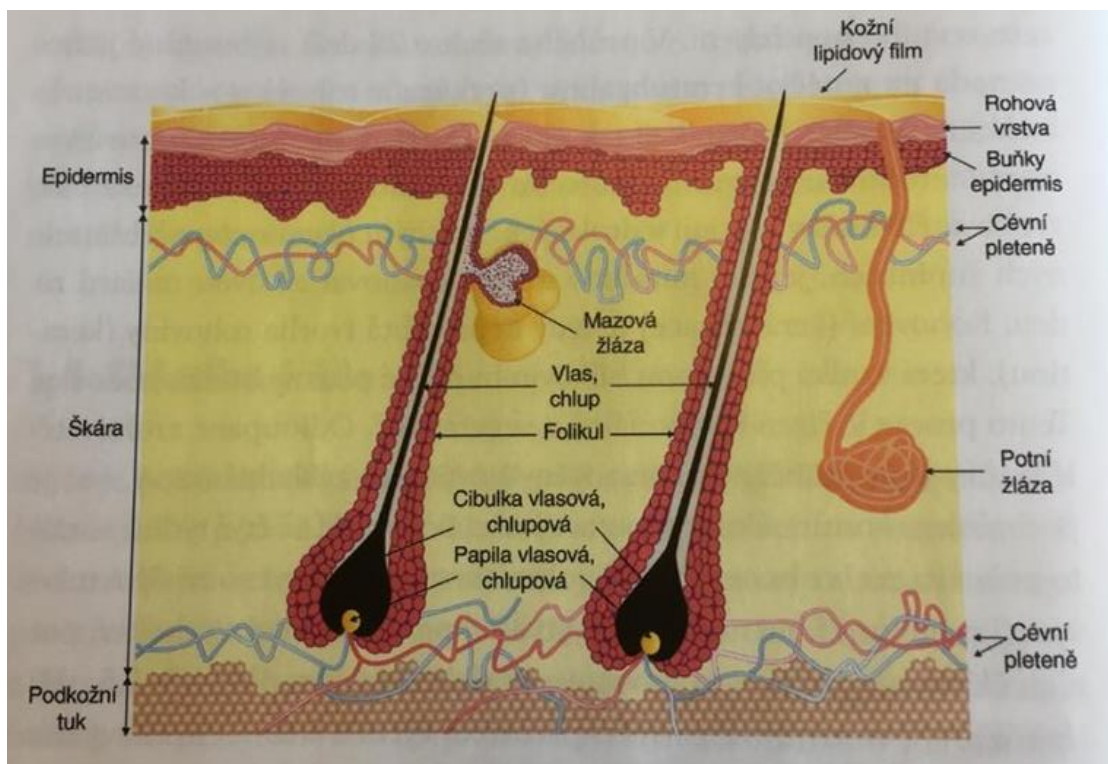


Obrázek 6: Schéma zachycující části konopné rostliny a jejich možné využití [4]- upraveno

2.5 Kůže

Kůže je největší tělesný orgán. Pokrývá celé naše tělo a v tělesných otvorech přechází na sliznici. U dospělého člověka představuje plochu 1,5-2 m² a její váha tvoří asi 1/6 celkové váhy těla. Hlavní funkcí kůže je ochrana proti vnějším fyzickým, chemickým

i biologickým vlivům. Neméně důležitá je i její role v termoregulaci a ochraně proti nadměrné ztrátě vody. Kůže je tvořena třemi základními vrstvami - pokožka, škára a podkožní tkáň [12,13].



Obrázek 7: Stavba kůže [15]- upraveno

2.5.1 Pokožka (*epidermis*)

Pokožka neboli *epidermis* je povrchová vrstva kůže, jejíž tloušťka se pohybuje od 0,03 do 0,1mm. Skládá se z několika vrstev. Na povrchu se nachází rohová vrstva (*stratum corneum*), pod ní pak vrstvy zrnitá (*stratum granulosum*) a ostnitá (*stratum spinosum*). Nejhlubší vrstva se nazývá bazální (*stratum basale*).

Povrch rohové vrstvy je pokryt souvislým lipidním filmem, který je tvořen produkty mazových žláz, potních žláz a olupující se rohovinou. Společně s rohovou vrstvou tak zajišťuje nejen mechanickou odolnost kůže.

Životní cyklus zrání buněk pokožky od bazální vrstvy až po rohovou vrstvu trvá přibližně 28 dní. Během této doby se buněčné jádro rozpadá a buňky se oplošťují a vznikají tak ploché, bezjaderné buňky rohové, které tvoří rohovou vrstvu. Zrohovatělé buňky se pak olupují ve formě drobných šupinek. Tyto odloupané zrohovatělé buňky jsou průběžně nahrazovány novými, čímž je zajištěna správná regenerace kůže.

Epidermis nemá vlastní cévní systém a musí tak být vyživována difuzí ze škáry [12,13,14,15].

2.5.2 Škára (*dermis, corium*)

Střední část kůže je širší vrstvou než přechodí, její tloušťka dosahuje až 3 mm. Je to gelová hmota obsahující vodu, elektrolyty, bílkoviny, aminokyseliny a sacharidy. Její

další součástí jsou kolagenová a elastická vlákna, které mají odpovědnost za pevnost a pružnost kůže. Díky svému složení škára určuje napětí (turgor) a pružnost (elasticitu) kůže. V průběhu života se stárnutím a ztrátou vlhkosti tato struktura mění [12,13,15].

Procházejí tu takové cévní a nervová zakončení. Zároveň do škáry zasahují kožní adnexa, která dělíme na žlázová a keratinizovaná. Mezi žlázová adnexa patří mazové a potní žlázy, mezi keratinizovaná pak vlasy, nehty a chlupy [15].

2.5.3 Podkožní tkáň (*tela subcutanea*)

Nejhlubší vrstva kůže je tvořena převážně tukovou a vazivovou hmotou. Mezi tukovými buňkami prochází krevní a lymfatické cévy a nervy. Tloušťka této vrstvy na různých místech těla kolísá. Její funkcí je hlavně ochrana vnitřních orgánů proti teplotním rozdílům i proti mechanickému poškození [15].

2.6 Testované organismy

2.6.1 *Escherichia coli*

Doména: *Bacteria*; Kmen: *Proteobacteria*; Třída: *Gamma Proteobacteria*; Řád: *Enterobacteriales*; Čeleď: *Enterobacteriaceae*; Rod: *Escherichia*; Druh: *Escherichia coli*

Escherichia coli je fakultativně anaerobní gramnegativní bakterie tyčinkovitého tvaru. Běžně se vyskytuje ve střevě, kde působí proti patogenům střeva, syntetizuje vitaminy A, B, K. Je nejběžnějším indikátorem fekální kontaminace vody, slouží jako model genového inženýrství (sekvenace celého genomu) a producent různých látek (např. inzulin) [16,26].

2.6.2 *Micrococcus luteus*

Doména: *Bacteria*; Kmen: *Actinobacteria*; Třída: *Actinobacteria*; Řád: *Actinomycetales*; Čeleď: *Micrococcaceae*; Rod: *Micrococcus*; Druh: *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus je aerobní grampozitivní bakterie. Vyskytuje se na pokožce savců, v potravinách, v půdě, vzduchu a vodě [16].

2.6.3 *Candida glabrata*

Doména: *Fungi*; Kmen: *Ascomycota*; Třída: *Saccharomycetes*; Řád: *Saccharomycetales*; Čeleď: *Saccharomycetaceae*; Rod: *Candida*; Druh: *Candida glabrata*

Candida glabrata je haploidní kvasinka, která jako jediná z rodu *Candida* netvoří při teplotě nad 37°C pseudohyfy. Patří mezi nejčastější příčiny kandidózy. Po proniknutí buněk do krevního oběhu způsobují infekce. Problémem je rezistence vůči antimykotikům, konkrétně azolům [17,29].

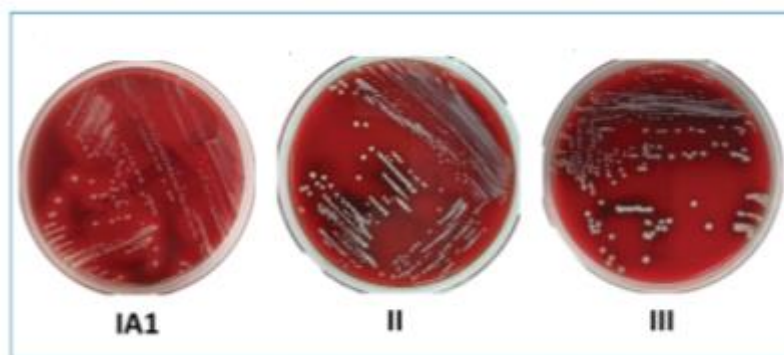
2.6.4 *Propionibacterium acnes*

Doména: *Bacteria*; Kmen: *Actinobacteria*; Třída: *Actinobacteria*; Řád: *Actinomycetales*; Čeleď: *Propionibacteriaceae*; Rod: *Propionibacterium*; Druh: *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes je grampozitivní anaerobní bakterie netvořící spory. Je součástí běžné flóry kůže, ústní dutiny, tlustého střeva, spojivky a vnějšího ústního kanálu. Přestože je považována za anaerobní, dokáže tolerovat kyslík až do 100 % nasycení. Pak ale roste za snížené rychlosti.

Propionibacterium acnes je patogen, který způsobuje řadu infekcí a je spojen s řadou zánětlivých stavů. Nejznámější je pro svou úlohu v akné vulgaris, ale je spojován s řadou dalších stavů, jako je sarkoidóza, synovitida, hyperstóza nebo osteitis. *Propionibacterium acnes* produkuje řadu exocelulárních enzymů a metabolitů, které mohou přímo poškodit hostitelskou tkáň.

U *Propionibacterium acnes* bylo identifikováno šest fylogenetických skupin IA1, IA2, IB, IC, II a III. V posledních dvou letech bylo navrženo rozdělení do tří poddruhů na základě morfologických rozdílů: fylotyp I, II a III. [18,19,20].



Obrázek 8: *Propionibacterium acnes* [18] - upraveno

2.7 Akné

Akné je zánětlivé onemocnění mazových žláz a vlasových váčků. Vyskytuje se převážně na horní polovině těla, tedy v oblasti obličeje, na horní části hrudníku, zádech a ramenou. V těchto oblastech se totiž nachází největší množství mazových žláz. Během puberty postihuje okolo 80% mladých lidí, ještě asi 20% populace jí trpí i po 25. roku života.

Akné není nakažlivá infekční choroba, v první fázi její příčinou nejsou mikroby. Ty způsobují až zánětlivou komplikaci po zvýšené tvorbě mazu.

Jsou známy i zvláštní formy akné, mezi které patří např. akné oleosa, které vzniká při práci s olejem a mazadly, dále akné chlorina, které způsobují chlorované uhlovodíky. Posledním příkladem je akné bromina, iodina, které se tvoří při dlouhodobější léčbě jódem nebo bromem [12,13,15,21].

2.7.1 Vznik a průběh akné

Akné se řadí mezi tzv. multifaktoriální onemocnění, protože na jeho vzniku se podílí mnoho faktorů, jak vnitřních, tak vnějších. Zejména vnitřní příčiny mají velký vliv na průběh choroby. Vnější příčiny mají už jen druhotný význam.

Prvním faktorem je zvýšená tvorba kožního mazu. Za zvýšenou činnost mazových žláz jsou zodpovědné androgeny, což jsou pohlavní hormony. Činnost mazových žláz je také ovlivněna hormony podvěsku mozkového, štítné žlázy a působením centrálního nervového systému. Částečně je funkce ovlivňována i dietou, duševním stavem či některými léky.

Dalším faktorem je zvýšená a zrychlená produkce zrohovatělých buněk ve folikulech a ve vývodech mazových žláz. Tyto rohové buňky disponují zvýšenou přilnavostí, což stěžuje jejich odlučování a tím blokuje uvolňování mazu na povrch kůže. Pak dochází k ucpávání folikulu mazové žlázy a hromadění mazu.

Faktorem, který se uplatňuje až v průběhu onemocnění, je bakteriální flóra. Hlavním zástupcem je *Propionibacterium acnes*.

Mezi další faktory se řadí dědičnost, psychosomatické souvislosti, některé léky, potraviny a mnoho dalších faktorů.

Samotný vznik akné má své počátky ve vývodech folikulu mazových žláz. Zde totiž dochází ke zvýšenému ulpívání rohových šupinek i ke zvýšené tvorbě mazu. Tím se vývod ucpává a vytvářejí se mikrokomedony.

Rohové buňky přibývají a hromadí se, tvoří se uzavřené a otevřené komedony, což je první viditelný projev akné.

Vývod mazové žlázy je kvůli komedonům uzavřen a tím vzniká ideální prostředí pro pomnožení bakterií, zejména anaerobního *Propionibacterium acnes*. Tato bakterie produkuje enzymy, které štěpí tuky na mastné kyseliny a některé z nich pak nepříznivě působí na stěnu folikulu tak, že se stává méně odolnou. Snadno pak dojde k prasknutí folikulární stěny, její obsah je cizorodou látkou a dojde k zánětlivé reakci.

Dalším rozvojem vznikají pupínky, neštovičky, vřídky a další. Těžký zánět může způsobit až zničení celé mazové žlázy a na tomto místě pak vzniká jizva [13,15].

2.7.2 Léčba akné

2.7.2.1 Místní terapie

Místní (lokální) terapie se využívá hlavně u mírného až středně těžkého akné. Doporučuje se jejich preventivní aplikace. Do této skupiny patří klasické prostředky, retinoidy, antibiotika, bezoylperoxid a kyselina azelainová [15].

Tabulka 2: Přehled léčby místní [15]- upraveno

léčivo	účinek
kyselina salicylová	keratolytický, komedolytický
retinoidy	protizánětlivý, komedolytický
antibiotika	protizánětlivý, antimikrobiální
benzoylperoxid	antibakteriální
kyselina azelainová	komedolytický, antibakteriální, protizánětlivý

2.7.2.2 Celková (systémová, vnitřní) léčba

Tato léčba přichází na řadu ve chvíli, kdy již těžší a těžké formy akné dostatečně nereagují na lokální terapii. Využívá se léčba antibiotiky, hormonální či vakcinoterapie [15].

Tabulka 3: Přehled léčby celkové[15] - upraveno

léčivo	účinek
antibiotika	protizánětlivý, antibakteriální
hormonální antikoncepce	snížená tvorba mazu
vakcinoterapie	antibakteriální

2.7.2.3 Další možnosti individuálně doplňující léčbu akné

Tyto možnosti doplňují zevní a vnitřní léčby, nebo se využívají po odhojení zánětlivých projevů v další péči o pleť se sklonem k akné. Do této skupiny můžeme zařadit lékařskou kosmetiku, fototerapii, terapii pomocí laserů, kryoterapii, chirurgické metody a životosprávu [15].

Tabulka 4: Přehled léčby doplňující [15] - upraveno

léčivo	účinek
lékařská kosmetika	lepší stav pleti, řešení přidružených projevů (jizvy)
fototerapie	
laserová terapie	
kryoterapie	
chirurgické metody	

2.7.3 Vliv aktivních látek konopí na léčbu akné

Na léčbu akné se využívají hlavně konopné extrakty s obsahem účinných látek. Využívá se antimikrobiálního a protizánětlivého účinky kanabinoidů. Kanabinoid CBD ovlivňuje produkci mazu, což má vliv na průběh akné. Lze také použít extrakt ze semen konopí. Studie, která zkoumala vliv krému s 3 % obsahem extraktu ze semen, zjistila, že obsah mazu byl snížen při používání krému po dobu 12 týdnů [22].

2.8 Použité metody k analýze

2.8.1 Extrakce

Extrakce je dělicí proces, jehož principem je přechod složky mezi dvěma vzájemně prakticky nemísitelnými kapalinami nebo kapalnou a tuhou fází. Při extrakci kapaliny kapalinou přechází extrahovaná látka z jedné kapalně fáze do druhé, dokud se neustanoví rovnováha. Podmínkou je, aby polarita rozpouštědla přibližně odpovídala polaritě extrahované látky. Využívá se vytřepávání, kdy je látka v roztoku extrahována pouze jednou dávkou rozpouštědla, dále perforace, kdy je naopak látka extrahována kontinuálně. U extrakce pevných látek mluvíme o vyluhování. Přechod látek z pevné směsi do rozpouštědla může probíhat buď za laboratorní teploty a poté extrakci nazýváme macerací, nebo lze použít rozpouštědlo o vyšší teplotě a jde tak o digesci. Zbýlá nerozpuštěná směs pevných látek se obvykle odděluje filtrací.

Využívá se také extrakce pevné látky kapalinou za použití Soxhletova aparátu. Ve varné baňce se destiluje rozpouštědlo a jeho páry kondenzují v chladiči. Kondenzát postupně vyplňuje prostor s extrakční patronou, ve které je vzorek. Výška hladiny kapalně fáze postupně roste, až dosáhne přepadu. Kapalně fáze, která obsahuje extrakční činidlo a vyextrahovaný analyt, se převede zpět do varné baňky a proces se znovu opakuje. Po ukončení extrakce obsahuje varná baňka směs analytu a extrakčního činidla, které se od analytu odděluje například destilací [23,24,25].

2.8.2 UV-VIS spektrofotometrie

Absorpční spektrofotometrie je analytická metoda, která využívá výměny energie mezi elektromagnetickým zářením a hmotou. Záření, které je ve formě fotonů, o vlnové délce 180-380 nm pro ultrafialovou oblast spektra a 380-780 nm pro viditelnou oblast spektra je absorbováno molekulami látky, u kterých v důsledku absorpce dochází k excitaci vazebných a nevazebných elektronů, čímž se snižuje intenzita zářivého toku procházejícího vzorkem. Intenzita dopadajícího a procházejícího záření je zaznamenána ve spektrofotometru a výstupem je veličina zvaná absorbance. Vyhodnocením se získá absorpční spektrum obsahující maximum absorpce v určité vlnové délce. Tento výstup slouží ke kvalitativní analýze, při které se spektrum porovnává se spektry standardů. Více se ale používá kvantitativní analýza, kdy se využívá Lambert Beerův zákon, z něhož vyplývá závislost absorbance na koncentraci látek ve vzorku. Absorbance je podle vztahu dále závislá na molárním absorpčním koeficientu a na tloušťce květy [23].

2.8.3 Chromatografie

Chromatografie je analytická metoda, která slouží k separaci a identifikaci látek. Tato metoda spočívá v dělení směsi látek mezi dvěma fázemi. Jedna fáze je vždy nepohyblivá neboli stacionární a druhá fáze je pohyblivá nebo mobilní. Stacionární fáze může být pevná nebo kapalná a na ní dochází k zadržování dělených látek. Mobilní fáze může být plynná nebo kapalná a touto fází jsou dělené látky unášeny. Mechanismus využívá zadržení (retence) směsi látek stacionární fází a postupné a opakované vytváření rovnovážných stavů mezi stacionární a mobilní fází, protože při průchodu systémem přejde každá složka vzorku několikrát z mobilní fáze do stacionární a zpět.

Stacionární fáze je buď umístěna v koloně, nebo je nanášena na desce z inertního materiálu. Pevná stacionární fáze je tvořena porézními částicemi, zatímco kapalná stacionární fáze je nanášena na desku z inertního materiálu.

Mobilní fáze může kapalinové chromatografie být tvořena čistým rozpouštědlem nebo směsí vzájemně mísitelných rozpouštědel. Pokud je rozpouštědlo nebo směs rozpouštědel méně polární než stacionární fáze, mluvíme o systému s normálními fázemi. V systému s obrácenými fázemi je rozpouštědlo polárnější než stacionární fáze. Polarita obou fází ovlivňuje retenci. Dalším faktorem, který se podílí na průběhu separace, je volba eluce. Nejpoužívanější je gradientová eluce, kdy se složení mobilní fáze mění s časem. Dalším typem je izokratická eluce, u níž se složení mobilní fáze nemění během celé analýzy. V detektoru se nejčastěji spektrofotometrickou metodou sleduje složení eluátu, který se pak převede na elektrický signál. Výstupem je tzv. chromatogram, který obsahuje chromatografické píky udávající informace kvalitativní i kvantitativní. Jednotlivé analyty jsou identifikovány podle tzv. retenčního času, což je doba od nástřiku vzorku k vrcholu píku. Pro každou látku je retenční čas specifický a látka je identifikována srovnáním se standardy. Kvantitativní informace je vyhodnocena integrací plochou chromatografického píku pod křivkou [23,24].

2.8.4 Difuzní agarový test

Tato metoda slouží ke stanovení citlivosti mikroorganismů k antimikrobiálním látkám. Do Petriho misky s vhodným živným médiem je zaočkována daná kultura. Do agaru jsou vytvořeny jamky, do nichž se napipetuje daná antimikrobiální látka. Následuje 24 hodin inkubace, dochází k difúzi antimikrobiální látky a tím k potlačení růstu mikroorganismu kolem místa aplikace. Vzniká tak inhibiční zóna a citlivost mikroorganismu k dané látce se vyhodnotí změřením velikosti této zóny [27,28].

2.8.5 Diluční jamkový test

Diluční jamkový test se provádí na mikrotitračních destičkách s 96 jamkami. Do těchto jamek se napipetuje vzorek antimikrobiální látky a vhodně zředěná daná kultura.

Po 24 hodinové inkubaci se výsledek vyhodnocuje spektrofotometricky - měří se zákal v jamce se vzorkem a porovnává se s kontrolní jamkou [27,28].

3 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce, která se týká technického konopí a jeho využití v kosmetice proti akné, je řešení těchto dílčích úloh:

- literární rešerše týkající se charakterizace konopí, možnosti využití různých částí rostliny, obsahu aktivních látek
- stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí konopí
- návrh a testování konkrétního kosmetického výrobku proti akné s obsahem aktivních látek z konopí

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie a přístroje

4.1.1 Chemikálie

ABTS, Sigma Aldrich (SRN)
Agar Powder, Himedia (IND)
Bambucké máslo, Aromaterapeutická KH a.s. (ČR)
BHI medium, Himedia (IND)
D-glukose, p.a., LachNer (ČR)
Dusitan sodný, p.a., Lachema (ČR)
Ethanol absolute, VWE (USA)
Folin - Ciocalteu činidlo, Serva (SRN)
Gellinov easy, Lipo Chemicals (USA)
Glycerin bezvodý, p.a., LachNer (ČR)
Hydroxid sodný, p.a., LachNer (ČR)
Chlorid hlinitý, p.a., LachNer (ČR)
Kakaové máslo, Aromaterapeutická KH a.s. (ČR)
Kanabichromen CBC, Sigma Aldrich (SRN)
Kanabidiol CBD, Sigma Aldrich (SRN)
Kanabigerol CBG, Sigma Aldrich (SRN)
Kanabinol CBN, Sigma Aldrich (SRN)
Katechín, Sigma Aldrich (SRN)
Konopný olej, Karel Hádek (ČR)
Kvasničný autokatalyzát, Himedia (IND)
Kyselina gallová, Sigma Aldrich (SRN)
LB medium, Sigma (SRN)
Methanol pro HPLC, Penta (ČR)
NB medium, Himedia (IND)
Olej z jader hroznového vína, Karel Hádek (ČR)
PEG-40, ACETRADE (ČR)
Pentylenglykol, Minasolve (FR)
Pepton, Roth (SRN)
Trolox, Sigma Aldrich (SRN)
Uhličitan sodný, p.a., Lachner (ČR)

4.1.2 Přístroje

Analytické váhy Boeco (SRN)

ELISA Reader BioTek ELx808, Biotek (SRN)

Kolona Kinetex 5 µm C18, 4,6 x 150 mm, Agilent Technologies (USA)

Laminární box Airstream, ESCO (SN)

Sestava HPLC/PDA/MS, Thermo Finnigan Surveyor, Thermo Fischer (USA)

Spektrofotometr VIS, Helios δ, Unicam (GB)

Sušárna, Memmert GmbH + Co. KG (SRN)

Temperovaná třepačka HeidolphUnimax 1010, Labicom (ČR)

Vortex, TK35, Kartell spa (USA)

Vodní lázeň EL-20, Merci a.s. (ČR)

Dále byly použity automatické pipety různých objemů a běžné laboratorní sklo a vybavení

4.2 Použité mikroorganismy

Mikroorganismy použité v práci byly získané z České sbírky mikroorganismů (Czech Collection of Microorganisms, CCM) Brno.

Pro antimikrobiální testy byla použita bakterie spolupodílející se na tvorbě akné – *Propionibacterium acnes*. Pro doplnění komplexnosti testů byly použité i modelové organismy z řady grampozitivních bakterií, z gramnegativních bakterií a řad kvasinek:

- *Escherichia coli* CCM 7395
- *Micrococcus luteus* CCM 1569
- *Propionibacterium acnes* CCM 3437
- *Candida glabrata* CCM 8270

Pro kultivaci bylo vždy použito 50 ml daného tekutého média v Erlenmeyerově baňce, které bylo zaočkováno příslušnou kulturou z dlouhodobě uchovávané kultury. Výjimkou byla kultura *Propionibacterium acnes*, která byla kultivována v centrifugační zkumavce naplněné téměř k uzávěru, aby byly zajištěny anaerobní podmínky. Ve všech případech probíhala kultivace na temperované třepačce při 37°C po dobu 24 hodin. Poté bylo inokulum použito na antimikrobiální testy. Při přípravě médií i během manipulace s mikroorganismy probíhala práce ve sterilním boxu.

Pro gramnegativní bakterii *Escherichia coli* CCM 7395 (LB médium) a pro obě grampozitivní bakterie *Propionibacterium acnes* CCM 3437 (BHI médium) a *Micrococcus luteus* CCM 1569 (NB médium) byla použita komerční média (viz Tab. číslo), která byla připravena dle návodu na obalu. V případě přípravy pevného média byl přidán agar o koncentraci 20g/l.

Pro kultivaci kvasinky *Candida glabrata* CCM 8270 bylo připraveno YPD médium, jehož složení je uvedeno v tabulce Tabulka 5. Pro přípravu pevného média byl opět přidán agar o koncentraci 20 g/l.

V následující tabulce (Tabulka 5) je uvedeno složení komerčních médií i složení YPD média, které bylo namícháno.

Tabulka 5: Složení médií pro kultivaci mikroorganismů

Médium	mikroorganismus	složka	koncentrace (g/l)
BHI	<i>Propionibacterium acnes</i>	telecí mozek	200
		hovězí srdce	250
		pepton	10
		dextróza	2
		NaCl	5
		Na ₂ HPO ₄	2,5
NB	<i>Micrococcus luteus</i>	pepton	10
		hovězí extrakt	10
		NaCl	5
LB	<i>Escherichia coli</i>	trypton	10
		kvasniční extrakt	5
		NaCl	10
YPD	<i>Candida glabrata</i>	pepton	10
		glukóza	40
		kvasniční autokatalyzát	20

4.3 Použité odrůdy konopí

Pro tuto bakalářskou práci byly použity dvě odrůdy konopí setého, které byly vypěstovány v Kostelní Myslové u Telče.

4.4 Příprava konopných vzorků

Jako vzorky byly použity konopné extrakty a kosmetické přípravy z nich vyrobené (pleťový krém a pleťový peeling). Dále byly zakoupeny výrobky kosmetické značky Bione Cosmetics řady Cannabis.

4.4.1 Extrakty

Pro přípravu extraktů z čerstvé rostliny bylo naváženo 15 g směsi obsahující všechny její části, tedy květy, semena, listy i stonk. Navážka byla poté zalita 100 ml 60% roztoku ethanolu pro UV-VIS za laboratorní teploty. Konopí bylo extrahováno v baňkách, které byly ponechány ve tmě po dobu jednoho týdne. Následně byly konopné extrakty zfiltrány přes vrstvu gázy do tmavých skleněných lékovek.

Pro přípravu extraktů sušeného konopí byly obě dvě odrůdy nejdříve sušeny v sušárně po dobu 4 dnů při 40°C. Součástí postupu práce bylo také gravimetrické stanovení obsahu vody v konopí, které bylo zjištěno vážením rostliny před a po sušení. Z rozdílu těchto hodnot byl zjištěn procentuální obsah vody v čerstvém konopí, což bylo použito

při dalších stanovení na přepočít. Z usušeného konopí byly vytvořeny tři typy extraktů: sušený květ, list a směs. Další postup byl stejný jako u čerstvé rostliny.

Dále byly vytvořeny dva extrakty do pentylen glykolu. Pro ně byla vybrána směs konopí v případě obou odrůd. Naváženo bylo opět 15 g směsi a ponecháno extrahovat do 100 ml pentylen glykolu po dobu jednoho týdne.

Nakonec byly vytvořeny dva extrakty s rostlinou Dobromysl. Naváženo bylo 7,5 g směsi konopí a 7,5 g Dobromyslu obecného a opět ponecháno extrahovat do 100 ml 60% roztoku ethanolu po dobu jednoho týdne. Dobromysl obecná obsahuje účinné látky jako silice, třísloviny, flavonoidy a antioxidanty. Má protizánětlivé účinky a používá se jako přírodní antibiotikum.



Obrázek 9: Vytvořené konopné extrakty

4.4.2 Plet'ový krém s obsahem konopné složky

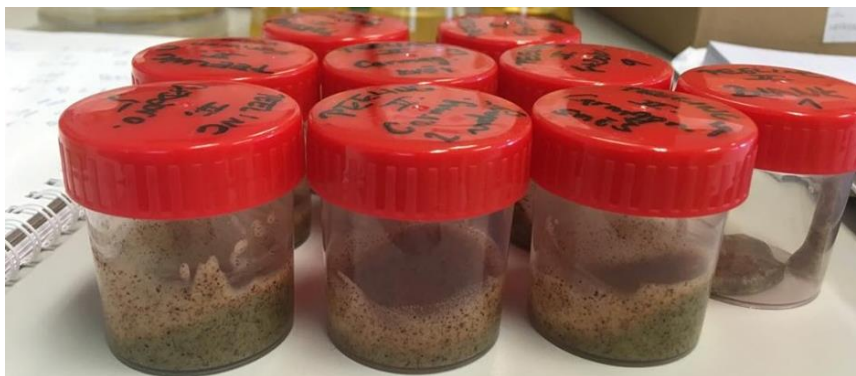
Hmotnost vzorku krému s obsahem konopného extraktu byla 50 g, hmotnost jednotlivých složek krému byla vypočítána dle tabulky níže (Tabulka 6). Nejprve byly naváženy suroviny pro olejovou fázi, poté byla do druhé kádinky připravena vodná fáze. Obě kádinky byly umístěny do vodní lázně o teplotě 75 °C. Po ohřátí a rozpuštění všech složek obou fází byla za stálého míchání přilévána olejová fáze do vodné. Emulze byla míchána do zchladnutí, rychlost otáček a pozice míchadla byla měněna. Krém byl připraven bez konopných extraktů. Konopné extrakty byly přidány až do hotového krému po zchladnutí.

Tabulka 6: Obsah složek pro výrobu krému

VODNÁ FÁZE		OLEJOVÁ FÁZE	
SUROVINA	OBSAH [%]	SUROVINA	OBSAH [%]
destilovaná voda	34,5	bambucké máslo	10
glycerol	10	kakaový tuk	10
ethanol	5	dimethicone	10
konopný extrakt	5	hroznový olej	5
		PEG-40	5
		cetylalkohol	3
		ercawax	2,5

4.4.3 Peeling s obsahem konopné složky

Hmotnost vzorku peelingu s obsahem konopného extraktu byla 50 g, hmotnost jednotlivých složek peelingu byla vypočítána podle tabulky níže (Tabulka 7). Nejdříve byly do kádinky naváženy suroviny pro olejovou fázi, následně byla do další kádinky připravena vodná fáze. Obě kádinky byly umístěny do vodní lázně o teplotě 75 °C. Po rozpuštění všech složek obou fází a zahřátí na 75 °C byla za stálého míchání přilévána olejová fáze do vodné. Po vychladnutí zhruba na 40 °C byla do směsi přidána abraziva. Emulze byla poté míchána do zchladnutí, rychlost otáček a pozice míchadla byla měněna podle potřeby. Peeling byl připraven bez konopných extraktů. Konopné extrakty byly přidány až do hotového peelingu po zchladnutí.



Obrázek 10: Peeling s obsahem konopných extraktů

Tabulka 7: Obsah složek pro výrobu peelingu

VODNÁ FÁZE		OLEJOVÁ FÁZE	
SUROVINA	OBSAH [%]	SUROVINA	OBSAH [%]
glycerol	30	konopný olej	18
SLES	15	PEG-40	13
abraziva (jadérka z grepu)	5	bambucké máslo	11
konopný extrakt	2	včelí vosk	6

4.4.4 Zakoupené konopné přípravky

Pro srovnání připravených konopných výrobků s přípravky běžně dostupnými na českém trhu byly zakoupeny dva výrobky značky Bione.

4.4.4.1 Extra výživný pleťový krém

Složení: Aqua, Ethylhexyl Stearate, Hydrogenated Coconut Oil, Cetyl Alcohol, Glycerin, Glyceryl Stearate Se, Butyrospermum Parkii Butter, Stearic Acid, Allantoin, Panthenol, Xanthan Gum, Acrylates/Vinyl Isodecanoate Crosspolymer, Sodium Carbomer, Parfum, Sodium Hydroxide, Tocopherol, Allantoin, Capryloyl Glycine, Phenoxyethanol, Cannabis Sativa Seed Oil, Cannabis Sativa Leaf Extract, Inositol, Carnosine, Alcohol, Lecithin, Ectoin, Sorbitan Caprylate, Cyclotrapeptide-24 Aminocyclohexane Carboxylate

4.4.4.2 Pleťový peeling Bio Cannabis

Složení: Silica, Aqua, Sodium C14-16 Olefin Sulfonate, Glycerin, Titanium Dioxide, Xanthan, Sodium Carbomer, Phenoxyethanol, Parfum, CI 19140, 42051 Cannabis Sativa Leaf Extract.



Obrázek 11: Komerční kosmetické výrobky

4.5 Stanovení celkových polyfenolů

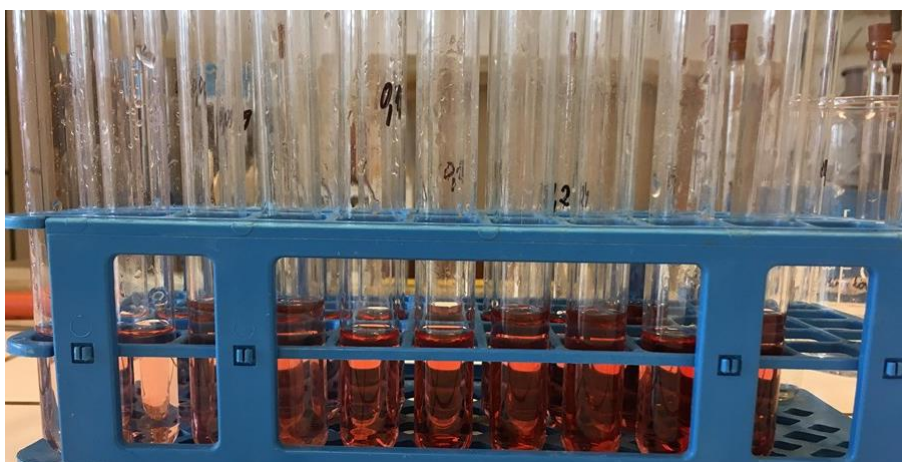
Ke stanovení celkových polyfenolů se nejčastěji využívá jejich reakce s Folin-Ciocalteuvým činidlem, jehož redukcí vzniká modře zbarvený produkt. Do zkumavky obsahující 1 ml Folin-Ciocalteuvova činidla zředěného destilovanou vodou v poměru 1:9 byl přidán 1 ml destilované vody a 50 μ l ethanolového extraktu konopí. Směs byla promíchána a po 5 minutách byl přidán 1 ml nasyceného roztoku Na_2CO_3 . Zkumavka byla opět promíchána a ponechána 15 minut stát. Poté byla změřena absorbance směsi při vlnové délce 750 nm, přičemž intenzita vzniklého modrého zbarvení odpovídá koncentraci celkových polyfenolů ve vzorku. Pro přípravu slepého vzorku byl místo ethanolového extraktu konopí použit 60% roztok ethanolu pro UV-VIS. Výsledná koncentrace byla stanovena z kalibrační křivky standardu kyseliny gallové v koncentračním rozmezí 0-0,5 mg/ml.

Při stanovení obsahu polyfenolů v extraktech pentylen glykolu bylo postupováno stejně, jen ethanol byl nahrazen pentylen glykolem.

4.6 Stanovení celkových flavonoidů

Ke stanovení celkových flavonoidů se využívá jejich reakce s hlinitou solí a dusitanem za vzniku oranžově-žlutého zbarveného produktu. Do zkumavky obsahující 0,5 ml ethanolového extraktu konopí bylo napipetováno 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml 5% NaNO_2 . Směs byla promíchána a po 5 minutách stání bylo přidáno 0,2 ml 10% AlCl_3 . Směs byla znovu promíchána a po 5 minutách bylo přidáno 1,5 ml 1M NaOH . Po promíchání byla směs ponechána 15 minut stát a poté byla změřena absorbance směsi při vlnové délce 510 nm, přičemž intenzita oranžovo-žlutého zbarvení odpovídá obsahu celkových flavonoidů ve vzorku. Pro přípravu slepého vzorku byl místo ethanolového extraktu konopí použit 60% roztok ethanolu pro UV-VIS. Koncentrace byla stanovena z kalibrační křivky standardu katechinu v koncentračním rozmezí 0-0,3 mg/ml.

Při stanovení obsahu flavonoidů v extraktech pentylen glykolu bylo postupováno stejně, jen ethanol byl nahrazen pentylen glykolem.



Obrázek 12: Vzorok pro sestavení kalibrační křivky

4.7 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Ke stanovení celkové antioxidační aktivity se využívá metoda zvaná TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) založená na hodnocení schopnosti vzorku zhášet syntetické radikály jako je například synteticky stabilní kation-radikál $ABTS^{•+}$ (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny)). V 10 ml odměrné baňce obsahující destilovanou vodu bylo rozpuštěno 0,036 g ABTS na celkovou koncentraci 7mmol/l, k němuž byl dále přidán peroxodisíran draselný o koncentraci 2,45mmol/l. Odměrná baňka byla obalena alobalem a ponechána ve tmě po dobu nejméně 12 hodin. Vzniklý kation-radikál $ABTS^{•+}$ byl poté zředěn 60% ethanolem pro UV-VIS na koncentraci, jehož absorbance byla $A=0,700 \pm 0,2$ při vlnové délce 734 nm. Pro změření celkové antioxidační aktivity ethanolového extraktu konopí bylo do zúžené křemenné kyvety napipetován 1 ml zředěného $ABTS^{•+}$ a 10 μ l ethanolového extraktu konopí. Ponecháním kyvety s promíchaným vzorkem ve tmě byla měřena absorbance v čase $t=10$ min (A_{10}). Při slepém vzorku (substrátu) byl místo ethanolového extraktu konopí použit 60% roztok ethanolu pro UV-VIS a ihned po promíchání byla měřena absorbance v čase $t=0$ min (A_0). Antioxidační aktivita byla stanovena z kalibrační křivky standardu Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) v koncentračním rozmezí 0-0,4 mg/ml, který byl připraven rozpuštěním 40 mg v 60% roztoku ethanolu pro UV-VIS ve 100 ml odměrné baňce na výslednou koncentraci 0,4 mg/ml a následně byl ředěn. Zředěný Trolox byl použit namísto ethanolového extraktu konopí a absorbance byla měřena stejným způsobem po 10 minutách. Výsledná absorbance byla stanovena rozdílem absorbancí substrátu a vzorku konopného extraktu či Troloxu.

4.8 Stanovení obsahu kanabinoidů pomocí HPLC

Extrakty čerstvého konopí byly zředěny v poměru 1:9 a extrakty ze sušeného konopí 1:99. Takto připravené vzorky byly zfiltrány přes jednorázový filtr.

Byla použita kolona Kinetex 5 μ m C18, 4,6 x 150 mm značky Agilent Technologies. Byly nastaveny podmínky gradientové eluce (Tabulka 8). Mobilní fáze A byl čistý methanol pro HPLC a mobilní fáze B byla Milli-Q voda. Rychlost průtoku 500 μ l \cdot min⁻¹, objem dávkovací smyčky 20 μ l a teplota separace 40°C. Kanabinoidy byly detekovány

spektrofotometričky při vlnových délkách 210, 220 a 280 nm odpovídající maximům absorbance jednotlivých standardů. Kalibrace byla provedena směsným roztokem kanabinoidů (CBC, CBD, CBG, CBN) v koncentračním rozmezí 0-25 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Tabulka 8: Složení mobilní fáze pro gradientovou eluci

ČAS [min]	MOBILNÍ FÁZE [%]	
	A	B
0	80	20
8	80	20
18	100	0
20	100	0
22	80	20
26	80	20

4.9 Stanovení antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální účinek vzorků extraktů konopí, připravených i zakoupených kosmetických přípravků byl stanoven za použití bakterií *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* a kvasinky *Candida glabrata*.

4.9.1 Difuzní agarový test

Nejdříve byly připraveny Petriho misky s příslušným médiem s přídavkem agaru. Tyto misky byly poté zaočkovány 24 hodinovou kulturou vybraných mikroorganismů. Poté byly do tuhého média vytlačeny jamky, do kterých se následně pipetovalo 50 μl vzorku konopných extraktů a slepý vzorek (60% ethanol), v případě kosmetických výrobků bylo do jamek umístěno malé množství konkrétního výrobku a jako blank byl použit výrobek bez přidaného extraktu. Kultura *Propionibacterium acnes* byla z důvodu dodržení anaerobního prostředí přelita další vrstvou média o teplotě 45°C. Následně byly Petriho misky uchovány při teplotě 37°C po dobu 24 hodin. Test byl vyhodnocen změřením rozsahu inhibiční zóny kolem jamek.

4.9.2 Diluční jamkový test

Na mikrotitrační destičku bylo napipetováno 75 μl vzorku konopných extraktů a slepých vzorků (60% roztok ethanolu a čistá kultura *Propionibacterium acnes*). Poté bylo přidáno 225 μl zředěné 24 hodinové kultury *Propionibacterium acnes*. Absorbance byla měřena v čase 0 a poté po 24 hodinové kultivaci při 37°C spektrofotometričky pomocí ELISA readeru při vlnové délce 630 nm.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Stanovení celkových polyfenolů

Obsah celkových polyfenolů v konopných extraktech byl stanoven podle postupu uvedeného v kapitole 4.5. Absorbance extraktů byla měřena třikrát a výsledná absorbance byla vypočítána jako aritmetický průměr. Koncentrace celkových polyfenolů pak byla získána dosazením výsledné absorbance vzorku do rovnice kalibrační křivky.

Vzorky extraktů obou odrůd čerstvého konopí byly přepočítány na 1 g sušené rostliny, podle gravimetrického stanovení uvedeného 4.4.1. Výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny pomocí programu MS excel.

Tabulka 9: Obsah celkových polyfenolů

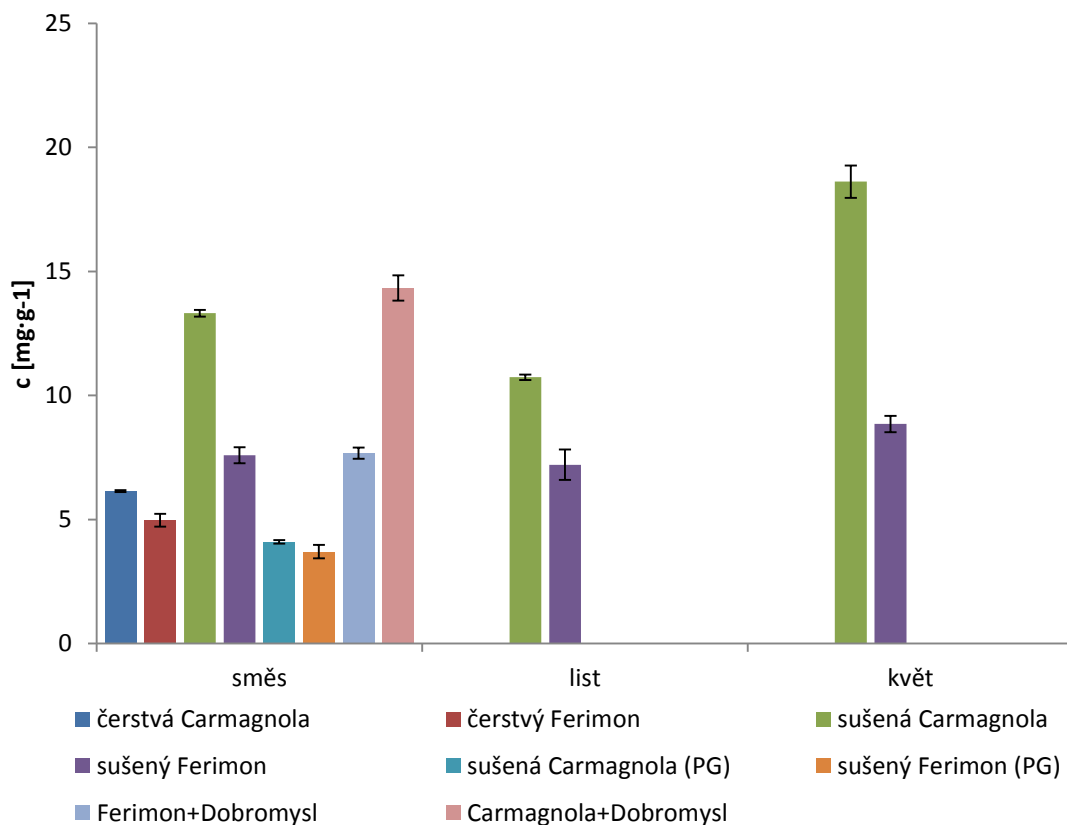
ODRŮDA	FERIMON		CARMAGNOLA	
VZOREK	KONCENTRACE			
	[mg·ml ⁻¹]	[mg·g ⁻¹]	[mg·ml ⁻¹]	[mg·g ⁻¹]
čerstvá směs	0,67 ± 0,03	4,97 ± 0,26	0,80 ± 0,01	6,15 ± 0,04
sušená směs	1,14 ± 0,05	7,59 ± 0,32	2,00 ± 0,03	13,31 ± 0,14
sušený květ	1,33 ± 0,05	8,85 ± 0,33	2,79 ± 0,11	18,62 ± 0,65
sušený list	1,08 ± 0,09	7,20 ± 0,61	1,61 ± 0,02	10,73 ± 0,11
sušená směs (PG)	0,56 ± 0,04	3,71 ± 0,27	0,62 ± 0,01	4,10 ± 0,07
sušená směs + Dobromysl	1,15 ± 0,03	7,67 ± 0,23	2,15 ± 0,02	14,33 ± 0,51

Z výsledků uvedených v tabulce (Tabulka 9) vyplývá, že množství polyfenolů je větší v extraktech sušeného konopí. To je pravděpodobně způsobeno tím, že se množství aktivních látek zvyšuje během sušení. Z tohoto důvodu byly porovnávány extrakty čerstvého a sušeného konopí. Jednotlivé vzorky byly dále porovnávány v závislosti na odrůdě a na typu extraktu.

Nejmenší obsah polyfenolů byl zjištěn u extraktů v pentylenglykolu (PG), což může být způsobeno tím, že tyto extrakty byly vytvořeny až po několika měsících po usušení a mohlo tedy dojít ke ztrátám aktivních látek při skladování. Další možností je horší extrakční schopnost oproti ethanolu.

Při porovnání odrůd je množství polyfenolů vždy vyšší u odrůdy Carmagnola. Tato odrůda se sklízí později než odrůda Ferimon, což by mohlo mít vliv na obsah aktivních látek. Vyšší obsah může být také ovlivněn šlechtěním.

Největší obsah polyfenolů lze nalézt v extraktech sušeného květu u obou odrůd. U odrůdy Carmagnola bylo zjištěno $18,62 \pm 0,65 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ rostliny, u odrůdy Ferimon $8,85 \pm 0,33 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ rostliny. V květu se totiž nachází největší množství aktivních látek v porovnání s ostatními částmi rostliny. Následují extrakty sušené směsi spolu s rostlinou Dobromysl, což dokazuje obsah aktivních látek i v této bylině. Nejmenší obsah u ethanolových extraktů vykazují extrakty čerstvé rostliny, což je vysvětleno výše.



Obrázek 13: Obsah celkových polyfenolů v konopných extraktech

5.2 Stanovení celkových flavonoidů

Obsah celkových flavonoidů v konopných extraktech byl stanoven podle postupu uvedeného v kapitole 4.6. Vzorek byl proměřen opět třikrát, výsledná absorbance byla vypočítána jako aritmetický průměr a dosazena do rovnice kalibrační křivky pro získání koncentrace celkových flavonoidů.

Vzorky extraktů obou odrůd čerstvého konopí byly přepočítány na 1 g sušené rostliny, podle gravimetrického stanovení uvedeného 4.4.1. Výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny pomocí programu MS excel.

Tabulka 10: Obsah celkových flavonoidů

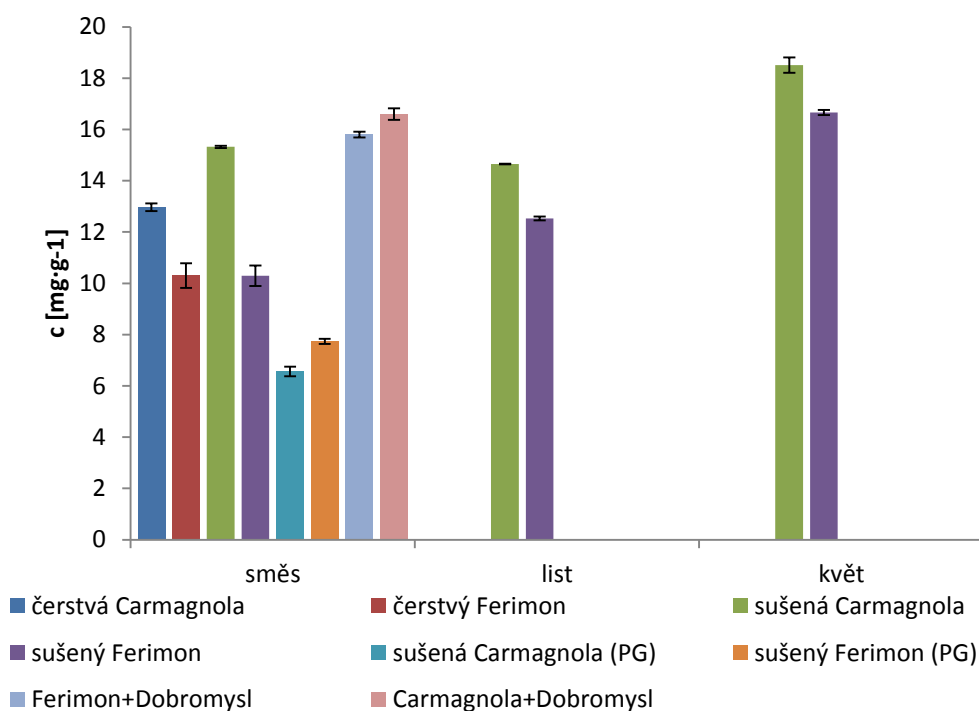
ODRŮDA	FERIMON		CARMAGNOLA	
VZOREK	KONCENTRACE			
	[mg·ml ⁻¹]	[mg·g ⁻¹]	[mg·ml ⁻¹]	[mg·g ⁻¹]
čerstvá směs	0,35 ± 0,04	2,31 ± 0,24	0,47 ± 0,00	3,60 ± 0,00
sušená směs	0,78 ± 0,05	5,19 ± 0,36	1,12 ± 0,01	7,48 ± 0,06
sušený květ	0,82 ± 0,12	5,44 ± 0,80	1,60 ± 0,03	10,67 ± 0,17
sušený list	0,72 ± 0,10	4,82 ± 0,64	1,10 ± 0,02	7,35 ± 0,04
sušená směs (PG)	0,27 ± 0,04	1,82 ± 0,27	0,29 ± 0,02	1,91 ± 0,11
sušená směs + Dobromysl	0,76 ± 0,08	5,07 ± 0,25	1,26 ± 0,05	8,40 ± 0,15

Jelikož flavonoidy patří do skupiny polyfenolů, měl by jejich obsah v extraktech být nižší v porovnání s polyfenoly. Po srovnání naměřených hodnot ve všech extraktech bylo zjištěno, že obsah flavonoidů je skutečně nižší než obsah polyfenolů.

Při srovnání obou forem rostliny byl vyšší obsah flavonoidů zjištěn u sušené formy rostliny, což potvrzuje vznik biologicky aktivních látek sušením (dekarboxylací).

Byl srovnáván obsah flavonoidů u obou odrůd. Celkový obsah flavonoidů byl opět větší u odrůdy Carmagnola, a to ve všech formách a částech. Podobně jako u stanovení celkových polyfenolů byl i zde největší obsah nalezen u extraktů ze sušeného květu. U odrůdy Carmagnola byl obsah flavonoidů $10,67 \pm 0,17 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ rostliny, u odrůdy Ferimon $5,44 \pm 0,80 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ rostliny, což je téměř poloviční obsah. Nevelký rozdíl byl zjištěn mezi extraktem ze sušené směsi a sušeného listu u odrůdy Carmagnola. Můžeme tedy usuzovat, že extrakt sušené směsi mohl být tvořen převážně listy konopí.

Po extraktech květů byl největší obsah flavonoidů zjištěn opět u extraktů s rostlinou Dobromysl. A lepších výsledků opět v kombinaci s odrůdou Carmagnola.



Obrázek 14: Obsah celkových flavonoidů v konopných extraktech

5.3 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita byla stanovena podle postupu v kapitole 4.7. Každý vzorek byl proměřen třikrát a výsledná absorbance, která byla vypočítána jako aritmetický průměr všech měření, byla dosazena do rovnice kalibrační křivky.

Vzorky extraktů obou odrůd čerstvého konopí byly přepočítány na 1 g sušené rostliny, podle gravimetrického stanovení uvedeného v kapitole 4.4.1. Výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny pomocí programu MS excel.

Tabulka 11: Antioxidační aktivita extraktů

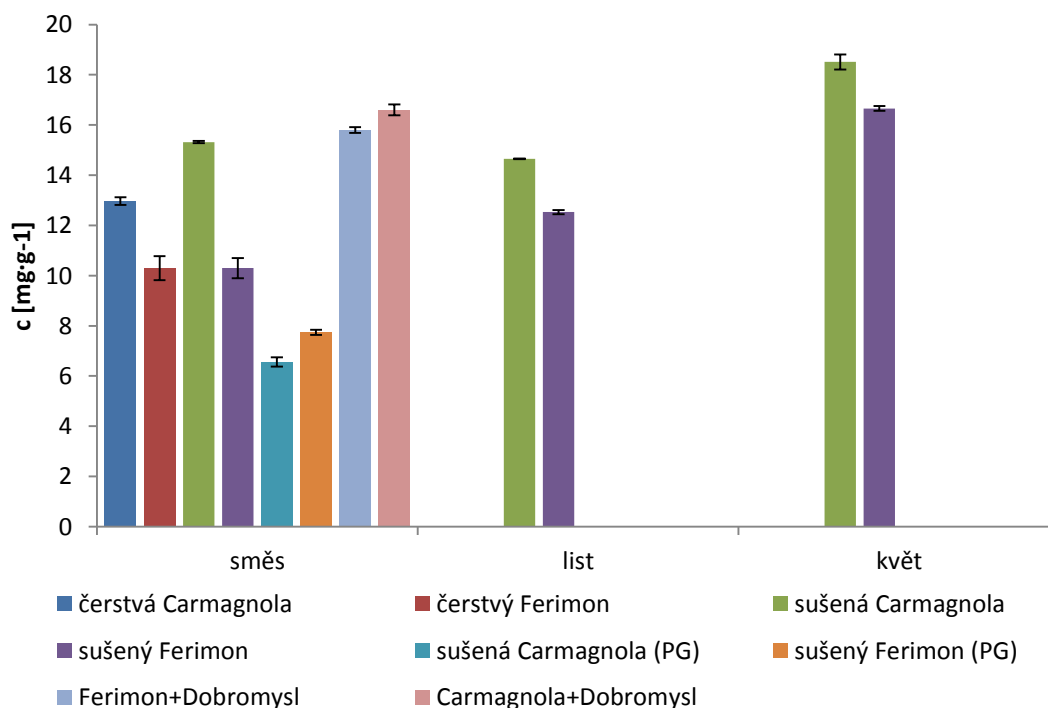
ODRŮDA	FERIMON		CARMAGNOLA	
	[mg·ml ⁻¹]	[mg·g ⁻¹]	[mg·ml ⁻¹]	[mg·g ⁻¹]
čerstvá směs	1,40 ± 0,06	10,30 ± 0,48	1,68 ± 0,02	12,97 ± 0,15
sušená směs	2,35 ± 0,06	15,67 ± 0,40	2,30 ± 0,01	15,32 ± 0,04
sušený květ	2,50 ± 0,02	16,66 ± 0,10	2,78 ± 0,05	18,51 ± 0,30
sušený list	1,88 ± 0,01	12,53 ± 0,08	2,20 ± 0,00	14,65 ± 0,01
sušená směs (PG)	1,16 ± 0,03	7,74 ± 0,10	0,98 ± 0,04	6,56 ± 0,19
sušená směs + Dobromysl	2,37 ± 0,03	15,80 ± 0,11	2,49 ± 0,06	16,60 ± 0,22

Stejně jako u předchozích stanovení byly porovnávány obě formy konopí a z tabulky výše (Tabulka 11) lze vyčíst, že vyšší antioxidační aktivitu vykazují extrakty připravené ze sušeného konopí. Jak již bylo uvedeno dříve, důvodem je, že některé biologicky aktivní látky vznikají během sušení.

Antioxidační aktivita byla vztažena na množství standardu Troloxu. Použitá metoda se nazývá Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC).

Největší antioxidační aktivitu vykazuje opět extrakt sušeného květu, protože v květu se nachází největší množství aktivních látek. U Carmagnoly výsledná hodnota byla $18,51 \pm 0,30$ mg teac·g⁻¹ rostliny a u Ferimonu $16,66 \pm 0,10$ mg teac·g⁻¹ rostliny

Stejně jako u přechozích stanovení dosahuje lepších výsledků odrůda Carmagnola. Jedinou výjimkou je extrakt sušené směsi. Extrakt z odrůdy Ferimon tak pravděpodobně obsahoval více květů a zároveň extrakt z odrůdy Carmagnola mohl obsahovat více listů. Nebo do výsledné hodnoty antioxidační aktivity mohl přispět i synergický účinek obsažených látek odlišné povahy než námi stanovované kanabinoidní a fenolické látky, které se nachází v odrůdě Ferimon.



Obrázek 15: Antioxidační aktivita konopných extraktů

5.4 Obsah kanabinoidů

Obsah kanabinoidů byl stanovován podle postupu uvedeného v kapitole 4.8. Rovnice kalibračních křivek pro směs CBD a CBG je $y = 770\,937x$, pro CBC $y = 404\,310x$ a pro CBN $y = 674\,102x$ [30]. Podle zvolené metody byl retenční čas pro kanabinoidy CBD a CBG 8,88 minuty, pro CBN 14,69 a pro CBC 16,42 minut.

Tabulka 12: Obsah kanabinoidů u odrůdy Carmagnola

KANABINOID	CBD+CBG		CBN		CBC	
	KONCENTRACE		KONCENTRACE		KONCENTRACE	
	[$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]
čerstvá směs	5	34	-	-	-	-
sušená směs	534	3559	6	41	22	145
sušený květ	1739	11594	7	45	53	353
sušený list	439	2928	-	-	-	-

U čerstvého konopí se vyskytují hlavně prekurzory kanabinoidů, proto byl očekáván velmi malý nebo nedetekovatelný obsah kanabinoidů, což bylo měřením potvrzeno. Kanabinoidy CBN a CBC nebyly detekovány vůbec, obsah CBD a CBG byl stanoven na $34 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Kanabinoid CBN byl v extraktech sušeného konopí identifikován ve velmi malém množství, v extraktech listu dokonce vůbec. Je metabolitem Δ^9 -tetrahydrokanabinolu (THC), a jelikož odrůda Carmagnola patří mezi technické konopí, obsahuje ho malé množství. Tedy i CBN byl detekován v malém množství.

Kanabinoid CBC byl v extraktech sušeného konopí identifikován opět pouze u květu a směsi. Největší obsah byl zaznamenán u extraktu květu a to $353 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Odrůda Carmagnola obsahovala nejvíce kanabinoidů CBD a CBG. Největší koncentrace byla zjištěna u extraktu květu, a to $11594 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ rostliny. Kanabinoidy se primárně tvoří v květu, odkud jsou transportovány do dalších částí rostliny, dle očekávání tedy květ vždy obsahuje nejvíce kanabinoidů. Obsah účinných kanabinoidních látek naměřených pomocí kapalinové chromatografie potvrzuje předchozí výsledky stanovení antioxidační aktivity.

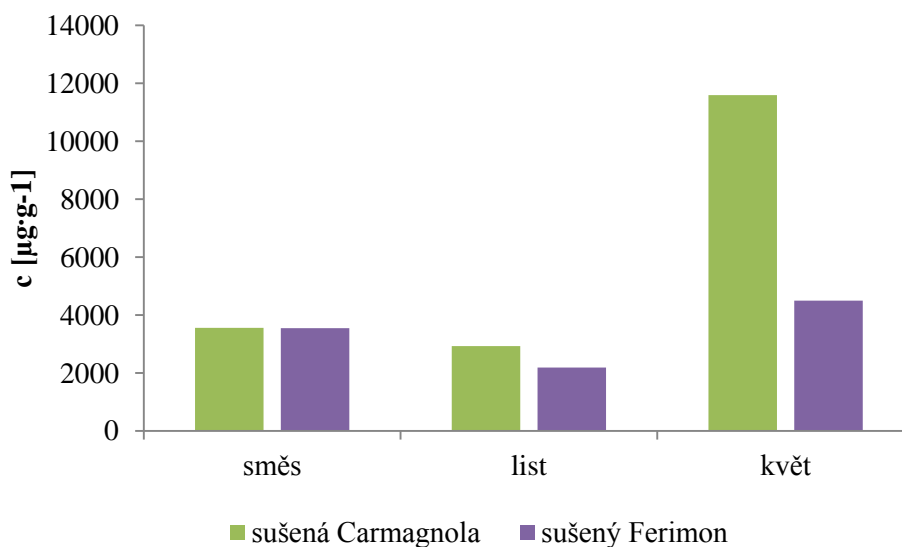
Tabulka 13: Obsah kanabinoidů u odrůdy Ferimon

KANABINOID	CBD+CBG		CBN		CBC	
	KONCENTRACE		KONCENTRACE		KONCENTRACE	
	[$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]
čerstvá směs	8	51	-	-	-	-
sušená směs	533	3553	2	12	30	200
sušený květ	675	4500	2	15	69	458
sušený list	328	2186	2	12	-	-

Podobně jako u odrůdy Carmagnola i zde můžeme vidět, že nejméně kanabinoidů obsahuje extrakt z čerstvé rostliny. Byly detekovány pouze kanabinoidy CBD+CBG.

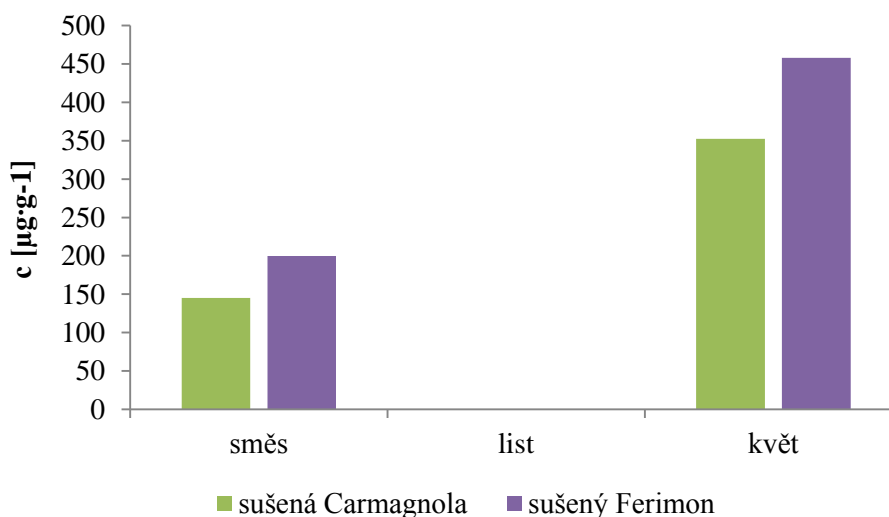
I odrůda Ferimon patří mezi technické konopí, proto je i obsah kanabinoidu CBN velmi malý. Kanabinoid CBC opět nebyl detekován v extraktu listu. Nejvíce ho bylo detekováno v extraktu květu ($458 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Nejvíce jsou zastoupeny kanabinoidy CBD a CBG, u květu byla zjištěna koncentrace $4500 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, u směsi $3553 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.



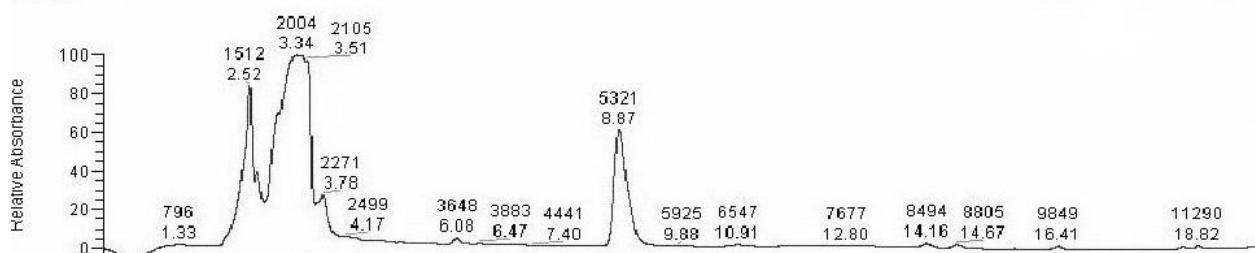
Obrázek 16: Obsah kanabinoidů CBD a CBG

Při porovnání dvou nejzastoupenějších a také nejvzácnějších kanabinoidů pro své účinky u odrůd Carmagnola a Ferimon lze pozorovat větší obsah u odrůdy Carmagnola, u květu je rozdíl dokonce více jak dvojnásobný. Naopak u směsi je rozdíl téměř nepoznatelný, což může být způsobeno tím, jaká část rostliny v extraktech převládá.



Obrázek 17: Obsah kanabinoidu CBC

Naopak obsah kanabinoidu CBC je větší u odrůdy Ferimon. Důvodem může být odlišný obsah jednotlivých kanabinoidů u různých odrůd, a proto je možné, že se kanabinoid CBC vyskytuje u odrůdy Ferimon ve větším množství.



Obrázek 18: Chromatogram vzorku extraktu sušeného květu odrůdy Carmagnola

5.5 Antimikrobiální aktivita

Podle postupu uvedeného v kapitole 4.9 byla stanovena antimikrobiální aktivita konopných extraktů, vyrobených i zakoupených kosmetických přípravků. Pro stanovení antimikrobiální aktivity extraktů proti *Propionibacterium acnes* byla využita diluční jamková metoda, pro stanovení antimikrobiální aktivity kosmetických přípravků difuzní agarový test. Pro všechny ostatní modelové mikroorganismy, tedy *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* a *Candida glabrata* byl využit difuzní agarový test jak pro extrakty, tak pro kosmetické prostředky.

5.5.1 Extrakty

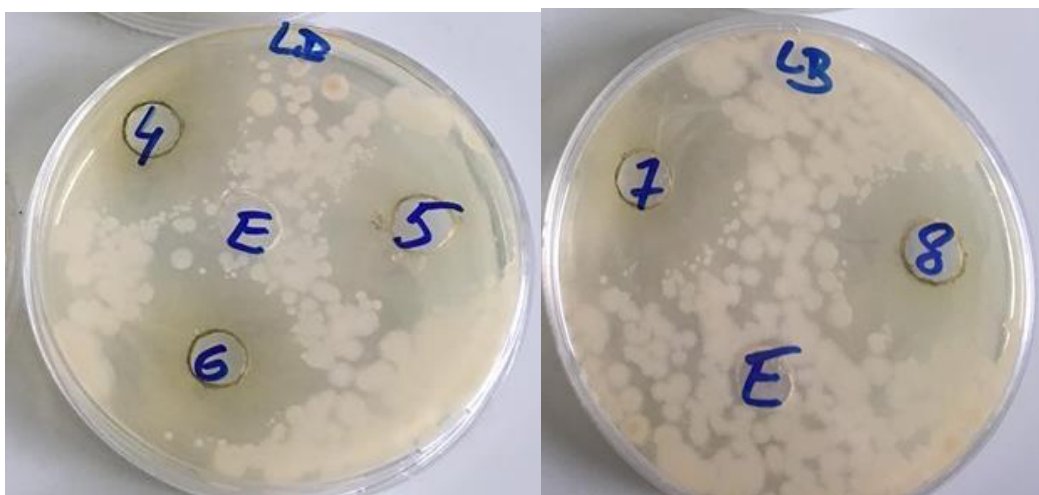
5.5.1.1 *Escherichia coli*

Pro gramnegativní bakterii *Escherichia coli* byl použit difuzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy extraktů u obou odrůd. Jako blank byl použit 60% vodný roztok ethanolu.

Tabulka 14: Antimikrobiální aktivita extraktů proti *Escherichia coli*

VZOREK	FERIMON	CARMAGNOLA
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
čerstvá směs	10,0	11,0
sušená směs	14,0	11,5
sušený květ	15,5	12,5
sušený list	10,0	10,0
sušená směs (PG)	9,0	9,5
sušená směs + Dobromysl	11,0	11,0

Proti gramnegativní bakterii vykazují konopné extrakty poměrně značný inhibiční účinek (viz Tabulka 14). Největší antimikrobiální aktivita byla zjištěna u extraktů květů (15,5 mm u odrůdy Ferimon a 12,5 mm u odrůdy Carmagnola) a sušené směsi. Nicméně všechny extrakty vykazují inhibiční účinek pohybující se okolo 10 mm. Při porovnání obou odrůd dosáhla lepších výsledků odrůda Ferimon u extraktů z usušených částí rostliny, u extraktů z čerstvých rostlin naopak odrůda Carmagnola.



Obrázek 19: Antimikrobiální aktivita konopných extraktů *Escherichia coli*

5.5.1.2 *Micrococcus luteus*

Pro grampozitivní bakterii *Micrococcus luteus* byl stejně jako u bakterie *Escherichia coli* použit difuzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy extraktů u obou odrůd konopí. Jako blank byl použit 60% roztok ethanolu.

Tabulka 15: Antimikrobiální aktivita extraktů proti *Micrococcus luteus*

VZOREK	FERIMON	CARMAGNOLA
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
čerstvá směs	6,5	6,0
sušená směs	7,5	8,5
sušený květ	8,5	10,0
sušený list	7,0	7,0
sušená směs (PG)	7,0	8,0
sušená směs + Dobromysl	8,0	8,0

Z tabulky (Tabulka 15) vyplývá, že i vůči grampozitivní bakterii vykazují konopné extrakty inhibiční účinek. Největší aktivita byla zjištěna u extraktu květu odrůdy Carmagnola (10,0 mm). Podle očekávání vykazují nejmenší účinek extrakty čerstvé rostliny, protože nejvíce účinných látek se tvoří v konopí dekarboxylací.

Při porovnání obou odrůd můžeme vidět, že antimikrobiální účinky se liší většinou o 1 mm nebo vůbec a lepších výsledků dosáhla odrůda Carmagnola (s výjimkou u čerstvých extraktů).

5.5.1.3 *Candida glabrata*

Pro kvasinku *Candida glabrata* byl také použit difuzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro všechny typy extraktů u obou odrůd konopí. Jako blank byl použit 60% vodný roztok ethanolu.

Tabulka 16: Antimikrobiální aktivita extraktů proti *Candida glabrata*

VZOREK	FERIMON	CARMAGNOLA
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
čerstvá směs	-	-
sušená směs	0,5	-
sušený květ	1,0	0,5
sušený list	-	-
sušená směs (PG)	-	-
sušená směs + Dobromysl	0,5	0,5

Z tabulky (Tabulka 16) vyplývá, že antimikrobiální aktivita proti kvasince je minimální, pro většinu spíše žádná. Největší inhibiční účinek byl zjištěn u extraktu květu odrůdy Ferimon.

5.5.1.4 *Propionibacterium acnes*

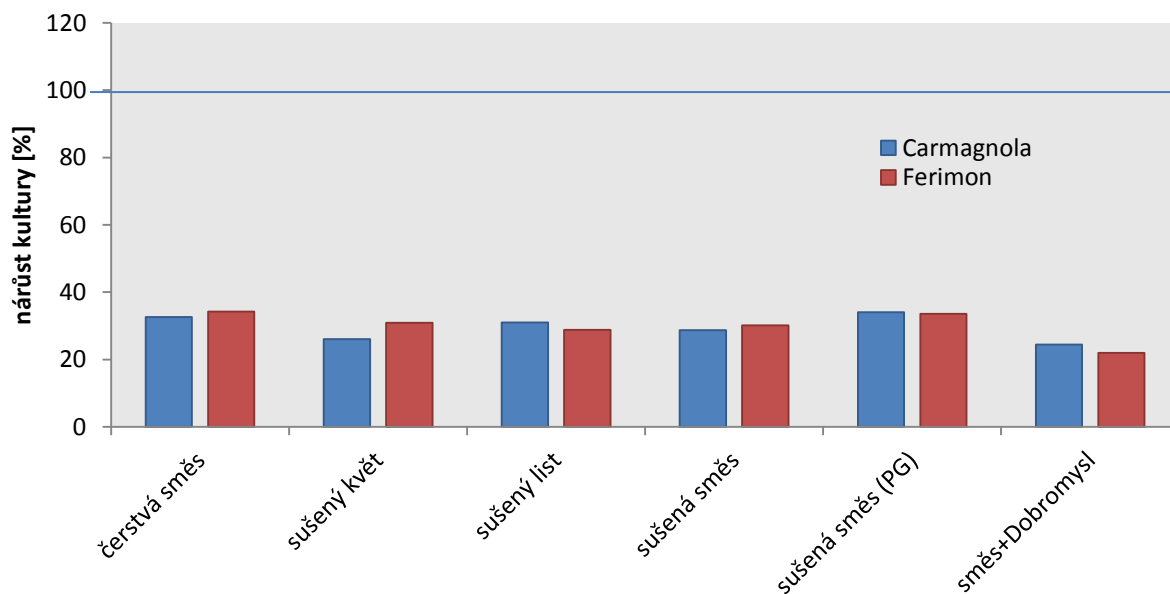
Diluční jamkovou metodou byl zjišťován antimikrobiální účinek konopných extraktů proti grampozitivní bakterii *Propionibacterium acnes*.

Podle postupu uvedeného v kapitole 2.8.5 byl měřen zákal na začátku testu a po uplynutí 24 hodin. Získané absorbance od sebe byly odečteny, čímž byl zjištěn nárůst bakterie. Od jednotlivých hodnot byl odečten účinek blanku (60% vodný roztok ethanolu). Všechny získané hodnoty byly získány jako aritmetický průměr tří měření.

Tabulka 17: Antimikrobiální aktivita extraktů proti *Propionibacterium acnes*

VZOREK	FERIMON	CARMAGNOLA
	NÁRŮST KULTURY [%]	
čerstvá směs	34,21	32,58
sušená směs	30,12	28,69
sušený květ	28,83	25,99
sušený list	30,86	31,00
sušená směs (PG)	33,55	33,99
sušená směs + Dobromysl	21,98	24,39

Graf Obrázek 18 ukazuje nárůst kultury v jednotlivých vzorcích. Výsledky byly přepočteny na nárůst kultury v procentech, kdy 100 % značí nárůst čisté kultury. Tedy čím menší procento (nižší sloupec), tím nižší nárůst kultury a lepší inhibiční účinek.



Obrázek 18: Antimikrobiální aktivita extraktů proti *Propionibacterium acnes*

U všech připravených konopných extraktů byl nárůst kultury nižší než 100 %, tedy všechny vykazovaly antimikrobiální aktivitu (viz Tabulka 17). Nejlepších výsledků dosáhly extrakty sušené směsi s rostlinou Dobromysl a u extraktů květů obou odrůd. Ostatní extrakty překračovaly nárůst kultury 30 %.



Obrázek 19: Diluční jamková metoda s konopnými extrakty

5.5.2 Kosmetické přípravky

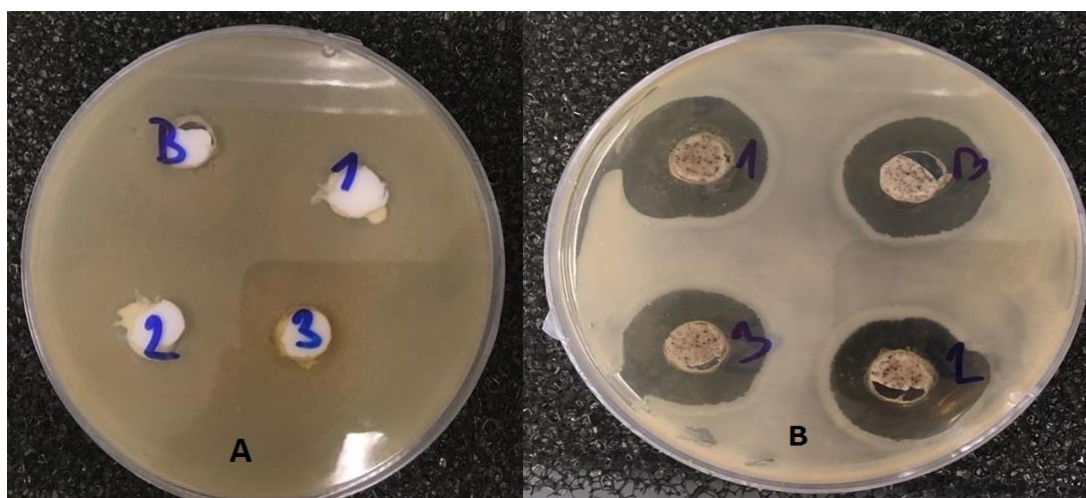
5.5.2.1 *Escherichia coli*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity kosmetických přípravků u gramnegativní bakterie *Escherichia coli* byl opět použit difúzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro vybrané extrakty: sušený květ, směs, směs s rostlinou Dobromysl a PG extrakty. Jako blank byl použit kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek.

Následující tabulce (Tabulka 18) lze vidět, že na rozdíl od extraktů byl účinek kosmetických přípravků nulový nebo minimální. U krému byl účinek nulový ve všech případech (Obrázek 20A). U peelingu byly největší inhibiční zóny pouze 1 mm. Podle obrázku (Obrázek 20B) jsou sice znatelné inhibiční zóny, ale ty byly pozorovány i u blanku, tudíž samotný účinek přípravků byl minimalizován. To mohlo být způsobeno antimikrobiální aktivitou SLES.

Tabulka 18: Antimikrobiální aktivita kosmetických přípravků proti *Escherichia coli*

VZOREK	KRÉM	PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
Ferimon sušená směs	-	-
Ferimon sušený květ	-	1
Carmagnola sušená směs	-	1
Carmagnola sušený květ	-	1
Ferimon sušená směs (PG)	-	0,5
Carmagnola sušená směs (PG)	-	1
Ferimon sušená směs + Dobromysl	-	0,5
Carmagnola sušená směs + Dobromysl	-	0,5



Obrázek 20: Antimikrobiální aktivita krému (A) a peelingu (B) proti *Escherichia coli*

U zakoupených komerčních přípravků byl zjištěn větší účinek. Ten ale pravděpodobně nebude způsoben konopným extraktem, protože se ve složení objevuje až na posledním místě. Všechny složky se řadí sestupně podle obsahu v konečném výrobku, tedy na konci seznamu jsou látky nejméně zastoupené. Inhibiční zóny byly nejspíše způsobeny fenoxyletanolem - konzervantem.

Tabulka 19: Antimikrobiální aktivita komerčních přípravků proti *Escherichia Coli*

VZOREK	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	2,5
KOMERČNÍ PEELING	8,5



Obrázek 21: Antimikrobiální aktivita zakoupeného peelingu

5.5.2.2 *Micrococcus luteus*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity kosmetických přípravků u gram pozitivní bakterie *Micrococcus luteus* byl použit difuzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro vybrané extrakty: sušený květ, směs, směs s rostlinou Dobromysl a PG extrakty. Jako blank byl použit kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek.

Na rozdíl od extraktů byl účinek kosmetických přípravků opět minimální nebo nulový. Největší inhibiční zóna (2 mm) byla zjištěna u peelingu, který byl vyroben z extraktu květu odrůdy Carmagnola. Menší účinky pak vykazovaly všechny ostatní typy peelingu. U krému byl účinek nulový.

Tabulka 20: Antimikrobiální aktivita kosmetických přípravků proti *Micrococcus luteus*

VZOREK	KRÉM	PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
Ferimon sušená směs	-	0,5
Ferimon sušený květ	-	1
Carmagnola sušená směs	-	0,5
Carmagnola sušený květ	-	2
Ferimon sušená směs (PG)	-	0,5
Carmagnola sušená směs (PG)	-	1,5
Ferimon sušená směs + Dobromysl	-	0,5
Carmagnola sušená směs + Dobromysl	-	0,5

Tabulka 21: Antimikrobiální aktivita komerčních přípravků proti *Micrococcus luteus*

VZOREK	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	1
KOMERČNÍ PEELING	8,5

U komerčních kosmetických přípravků byl účinek větší hlavně u peelingu. Naměřená inhibiční zóna byla pravděpodobně způsobena fenoxylethanolem.

5.5.2.3 *Candida glabrata*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity kosmetických přípravků u kvasinky *Candida glabrata* byl použit difuzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro vybrané extrakty - sušený květ, směs, směs s rostlinou Dobromysl a PG extrakty. Jako blank byl použit kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek.

Podobně jako u extraktů můžeme vidět, že účinek kosmetických přípravků proti kvasince *Candida glabrata* je až na dvě výjimky nulový. Největší inhibiční zóny 0,1 mm byly naměřeny u peelingu vytvořeného z květu odrůdy Ferimon a u sušené směsi také odrůdy Ferimon, která byla extrahována do PG. V případě krému nebyla zjištěna žádná antimikrobiální aktivita trvající 24 hodin.

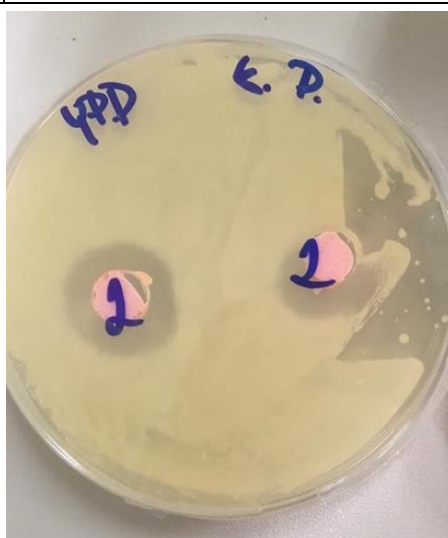
Tabulka 22: Antimikrobiální aktivita kosmetických přípravků proti *Candida glabrata*

VZOREK	KRÉM	PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
Ferimon sušená směs	-	-
Ferimon sušený květ	-	0,1
Carmagnola sušená směs	-	-
Carmagnola sušený květ	-	-
Ferimon sušená směs (PG)	-	0,1
Carmagnola sušená směs (PG)	-	-
Ferimon sušená směs + Dobromysl	-	-
Carmagnola sušená směs + Dobromysl	-	-

U komerčních kosmetických přípravků byl účinek o něco větší hlavně u peelingu. Tato inhibiční zóny však byla způsobena pravděpodobně fenoxoethanolem.

Tabulka 23: Antimikrobiální aktivita komerčních přípravků proti *Candida glabrata*

VZOREK	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	1
KOMERČNÍ PEELING	7



Obrázek 22: Antimikrobiální aktivita zakoupeného peelingu

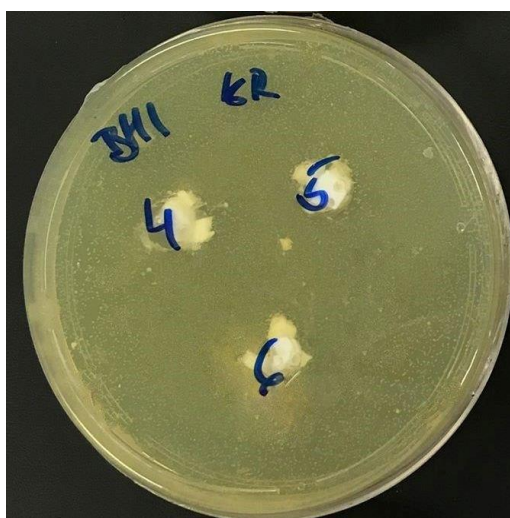
5.5.2.4 *Propionibacterium acnes*

Pro stanovení antimikrobiální aktivity kosmetických přípravků u grampozitivní bakterie *Propionibacterium acnes* byl použit difuzní agarový test. Antimikrobiální aktivita byla zjišťována pro vybrané extrakty - sušený květ, směs, směs s rostlinou Dobromysl a PG extrakty. Jako blank byl použit kosmetický přípravek bez obsahu účinných látek.

V tabulce níže (Tabulka 24) můžeme vidět, že účinek kosmetických přípravků je minimální. Největší inhibiční zónu (2 mm) vykazuje peeling vyrobený ze sušené směsi odrůdy Ferimon, druhý největší (1,5 mm) pak květ téže odrůdy. Malý účinek pak vykazují všechny ostatní typy extraktů ve výrobcích peelingu. U krému byl účinek nulový.

Tabulka 24: Antimikrobiální aktivita kosmetických přípravků proti *P. Acnes*

VZOREK	KRÉM	PEELING
	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]	
Ferimon sušená směs	-	2
Ferimon sušený květ	-	1,5
Carmagnola sušená směs	-	0,5
Carmagnola sušený květ	-	0,5
Ferimon sušená směs (PG)	-	1
Carmagnola sušená směs (PG)	-	1
Ferimon sušená směs + Dobromysl	-	0,5
Carmagnola sušená směs + Dobromysl	-	0,5



Obrázek 23: Antimikrobiální aktivita krému proti *Propionibacterium acnes*

Tabulka 25: Antimikrobiální aktivita komerčních přípravků proti P. acnes

VZOREK	VELIKOST INHIBIČNÍ ZÓNY [mm]
KOMERČNÍ KRÉM	1,5
KOMERČNÍ PEELING	8,5

U komerčních kosmetických přípravků byl zjištěn vyšší účinek opět u peelingu (8,5 mm). Tento efekt je pravděpodobně způsoben konzervačním činidlem. Inhibiční zóna zakoupeného krému se dá srovnat s našimi inhibičními zónami vyrobeného peelingu.

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá využitím technického konopí v kosmetice proti akné. Teoretická část se zabývá charakterizací konopí, jeho aktivních látek, dále problematikou akné, jeho příčiny a léčba. Součástí práce je také popis kůže a její stavba. Nejvýznamnější skupinu aktivních látek představují kanabinoidy, které jsou pro konopí unikátní a charakteristické. Pro experimentální část byly využity dvě odrůdy technického konopí - Ferimon a Carmagnola. Z nich byly vytvořeny ethanolové extrakty a extrakty do PG. Experimentální část se zabývá stanovením a obsahem aktivních látek v konopí. Stanoven byl obsah celkových polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita. Obsah kanabinoidů byl stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) při gradientové eluci. Byly vytvořeny dva kosmetické přípravky s obsahem vybraných konopných extraktů - pleťový krém a peeling. Také byly pořízeny dva komerční přípravky. Byl testován antimikrobiální účinek extraktů i přípravků proti *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Candida glabrata* a *Propionibacterium acnes* pomocí difuzních a dilučních testů.

Nejdříve byly připraveny extrakty ve 100 ml 60% ethanolu a ve 100 ml PG z obou odrůd konopí. Byly připraveny extrakty z čerstvé rostliny (směs) a několik typů extraktů ze sušené rostliny (list, směs a květ).

U těchto extraktů byl stanoven obsah polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita. Větší obsah polyfenolů a flavonoidů byl zjištěn u extraktů ze sušeného konopí. Tyto extrakty vykazovaly i vyšší antioxidační aktivitu v porovnání s extrakty z čerstvé rostliny. Tento jev je způsoben tím, že při sušení dochází k dekarboxylaci a tím vzniku více aktivních látek. Při porovnání extraktů směsi, listů a květů sušené rostliny bylo zjištěno, že nejvíce aktivních látek obsahují extrakty z květů. Právě tam se nachází největší množství aktivních látek. Antioxidační aktivita byla ve většině případů vyšší u odrůdy Carmagnola. Také množství celkových polyfenolů a flavonoidů bylo zjištěno vyšší u této odrůdy. Za zmínku stojí i extrakty s rostlinou Dobromysl. Dobromysl obecná obsahuje účinné látky, flavonoidy a antioxidanty. Díky spojení dvou rostlin s účinnými aktivními látkami můžeme dosáhnout synergického účinku a lepších výsledků.

Konopné extrakty byly také analyzovány na obsah kanabinoidů. Protože kanabinoidy CBD a CBG mají podobná spektra a retenční časy, nepodařilo se je od sebe odlišit a byly stanovovány společně. Dále byl stanoven i obsah kanabinoidů CBC a CBN. Protože se v čerstvém konopí nacházejí prekurzory kanabinoidů, bylo v čerstvých extraktech stanoveno velmi malé množství kanabinoidů CBD+CBG. U odrůdy Carmagnola bylo stanoveno největší množství kanabinoidů CBD+CBG. U odrůdy Ferimon bylo naopak identifikováno větší množství kanabinoidu CBC. Kanabinoid CBN byl stanoven ve velmi malém množství v obou odrůdách. Protože tento kanabinoid vzniká degradací THC, kterého je v technickém konopí obsaženo velmi málo, je i obsah kanabinoidu CBN nízký. Největší množství kanabinoidů bylo očekáváno v květu, protože v této části rostliny kanabinoidy vznikají a odtud jsou pak dopravovány do ostatních částí rostliny. To bylo stanovením potvrzeno.

Dalším úkolem byla tvorba kosmetických přípravků. Na základě předchozího stanovení byly vybrány extrakty ze sušeného květu, směsi, PG extrakty a extrakty s rostlinou Dobromysl. Byl vyroben krém a peeling a pro porovnání byly zakoupeny dva komerční produkty s obsahem konopného extraktu.

Konopné extrakty i kosmetické prípravky byly testovány na antimikrobiální aktivitu. Konopné extrakty vykazovaly poměrně velký inhibiční účinek vůči grampozitivním i gramnegativním bakteriím. U bakterie *Propionibacterium acnes* byl inhibiční účinek extraktů testován diluční jamkovou metodou kvůli zajištění anaerobních podmínek. Vyhodnocení bylo vztaženo na nárůst buněčné kultury, kdy nárůst čisté kultury (bez extraktů) byl označen jako 100%. Všechny konopné extrakty vykazovaly podobný inhibiční efekt. Proti kvasince *Candida glabrata* extrakty neprojevíly žádný nebo jen minimální inhibiční účinek.

Vyrobené kosmetické prípravky na rozdíl od extraktů vykazovaly buď minimální, nebo žádný účinek. Během testování bylo možné u některých testovaných prípravků vidět inhibiční zónu, která ale postupně zarůstala daným mikroorganismem, a po 24 hodinách už nevykazovaly většinou žádnou antimikrobiální aktivitu. Z toho vyplývá, že dané prípravky mají menší než celodenní antimikrobiální aktivitu, v tomto případě je doporučováno používání výrobku víckrát za den (ráno, večer), aby byl podpořen účinek aktivních látek a viditelné zlepšení stavu aknézní pokožky. Nebo je možné konopnou kosmetiku využívat spíše jako doplněk k jinému účinnějšímu způsobu léčby.

U zakoupených komerčních prípravků byla zjištěna poměrná velká antimikrobiální aktivita. V případě peelingu však tato aktivita byla způsobena nejspíše konzervantem fenoxýethanolem, u krému pravděpodobně allantoinem. V našich prípravcích nebyly konzervační látky obsaženy záměrně, aby byl zjištěn antimikrobiální účinek konopných extraktů.

Ze získaných výsledků můžeme usoudit, že v kosmetickém průmyslu je výhodnější používat sušenou formu konopí kvůli vyššímu obsahu aktivních látek. Nejlepších výsledků pak lze dosáhnout použitím extraktu ze sušeného květu, kde se nachází nejvíce aktivních látek.

7 LITERATURA

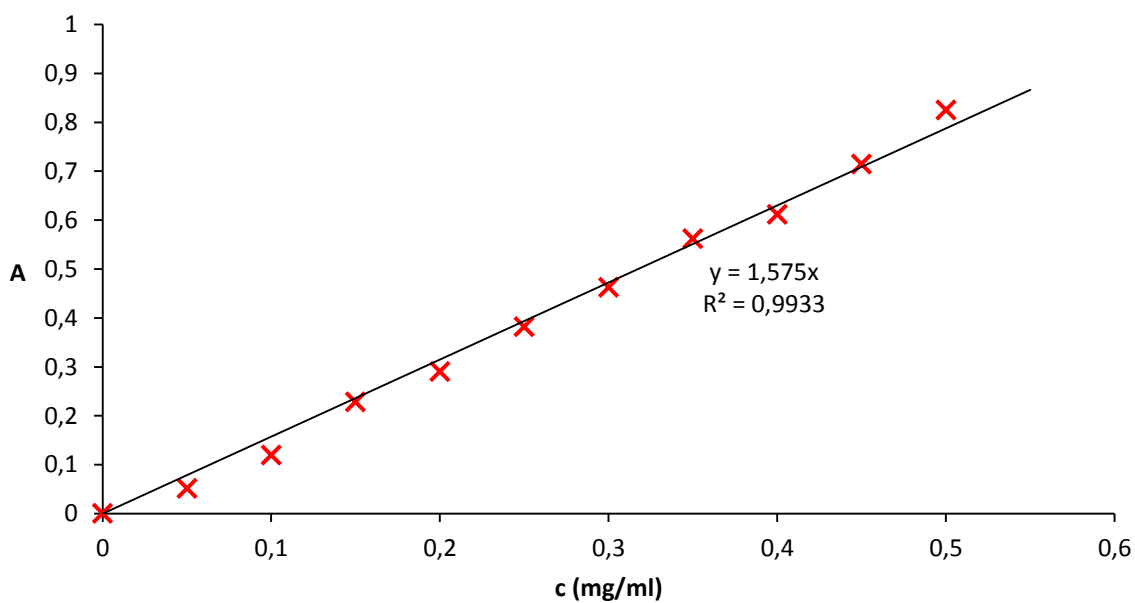
- [1] DUPAL, Libor. *Kniha o marihuaně*. 3., dopl. vyd. Praha: Maťa, 2010. Matama. ISBN 978-80-7287-136-0.
- [2] MIOVSKÝ, Michal. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2.
- [3] RUMAN, Michal. *Cannabis - konopí: průvodce světem univerzální rostliny*. Praha: Malý princ, 2014. ISBN 978-80-87754-13-9.
- [4] RUMAN, Michal a Linda BLÄTTLER. *Konopí: staronový přítel člověka*. Chvaleč: Konopa, 2008. ISBN 978-80-254-1825-3.
- [5] Zákon o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, In: *Sbírka zákonů*. Ročník 1998, číslo 167. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1998-167/zneni-20170701>.
- [6] HOLLAND, Julie. *Tráva: kompletní průvodce světem marihuany v medicíně, vědě, kultuře a politice*. Hodkovičky [Praha] : Pragma, c2014. ISBN 978-80-7349-408-7.
- [7] KUBÁNEK, Vladimír. *Konopí a mák: (pěstování, výroby, legislativa)*. V Tribun EU vyd. 2. Brno: Tribun EU, 2009. Knihovnicka.cz. ISBN 978-80-7399-895-0.
- [8] GROTENHERMEN, Franjo. *Konopí jako lék: praktický průvodce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně*. Olomouc: Fontána, c2009. ISBN 978-80-7336-552-3.
- [9] RUSSO, Ethan B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoidterpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*. 2011, 163(7), 1344-1364. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x. ISSN 00071188.
- [10] MAURYA, Nancy, Bharath Kumar VELMURUGAN, Sergio MAPELLI, Elena PONZONI, Ida M. BRAMBILLA, Giovanna BATTELLI a Remo REGGIANI. Therapeutic applications of cannabinoids. *Chemico-Biological Interactions*. 2018, 293(3), 77-88. DOI: 10.1016/j.cbi.2018.07.018. ISSN 00092797.
- [11] ANDRE, Christelle M., Jean-Francois HAUSMAN a Gea GUERRIERO. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in Plant Science*. 2016, 7(19). DOI: 10.3389/fpls.2016.00019. ISSN 1664-462x.
- [12] JONÁŠ, Josef a Vladimíra STRNADELOVÁ. *Akné: přírodní léčení*. Praha: Remat, 1998. Jonášova knihovna zdraví. ISBN 80-901519-7-3.
- [13] LEIBOLD, Gerhard. *Akné: příčiny a úspěšná léčba*. Praha: Svoboda, 1995. ISBN 80-205-0463-x.
- [14] ADLER, Yael. *Kůže zblízka: vše o našem největším orgánu*. Praha: Euromedia, 2018. Esence. ISBN 978-80-7549-532-7.
- [15] RULCOVÁ, Jarmila. *Akné: příčiny, projevy a terapeutické možnosti: rady lékaře*. Praha: Triton, 2005. ISBN 80-7254-661-9.
- [16] KOPECKÁ, Jana a Gabriela ROTKOVÁ. *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií*. Brno: Tribun EU, 2016. ISBN 978-80-263-1123-2.
- [17] FIDEL, Paul L., Jose A. VAZQUEZ a Jack D. SOBEL. Candida glabrata: Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparison to C.

- albicans. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999, **12**(1), 80-96. DOI: 10.1128/CMR.12.1.80. ISSN 0893-8512.
- [18] CORVEC, S., M.-A. DAGNELIE, A. KHAMMARI, B. DRÉNO a G. SUN. Taxonomy and phylogeny of Cutibacterium (formerly Propionibacterium) acnes in inflammatory skin diseases: Characterization of Prodiginines and Their Applications on Textile Materials. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. 2019, **146**(1), 26-30. DOI: 10.1016/j.annder.2018.11.002. ISSN 01519638.
- [19] DESSINIOTI, Clio, Andreas KATSAMBAS, A. KHAMMARI, B. DRÉNO a G. SUN. Propionibacterium acnes and antimicrobial resistance in acne: Characterization of Prodiginines and Their Applications on Textile Materials. *Clinics in Dermatology*. 2017, **35**(2), 163-167. DOI: 10.1016/j.clindermatol.
- [20] PERRY, A.L. a P.A. LAMBERT. Propionibacterium acnes. *Letters in Applied Microbiology*. 2006, **42**(3), 185-188. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2006.01866.x. ISSN 0266-8254.
- [21] AGRAVAT, S.V. a Ajita PILLAI. Acne vulgaris: an insight. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018, **9**(8), 3530-34. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(8).3530-34.
- [22] DHADWAL, Gurbir a Mark G. KIRCHHOF. The Risks and Benefits of Cannabis in the Dermatology Clinic. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*. 2017, 2018-8-1, **22**(2), 194-199. DOI: 10.1177/1203475417738971. ISSN 1203-4754.
- [23] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [24] MOTYKA, Kamil a Jan HLAVÁČ. *Stručný přehled separačních metod*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009. ISBN 978-80-244-2304-3.
- [25] KÁBELOVÁ, Božena, Ivana PILÁTOVÁ a Zdeňka HANÁKOVÁ. *Laboratorní technika II*. Brno: VUTIUM, 1999. ISBN 80-214-1450-2.
- [26] BABULA, Petr. *Archebakterie, bakterie, houby, protista*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2008. ISBN 978-80-7305-057-3.
- [27] VYTRÁSOVÁ, Jarmila a Zuzana BÍLKOVÁ. *Laboratorní cvičení z obecné mikrobiologie*. Vyd. 2. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2003. ISBN 80-7194-610-9.
- [28] BURSOVÁ, Šárka, Lenka NECIDOVÁ a Marta DUŠKOVÁ. *Mikrobiologie potravin a mikrobiologické laboratorní metody*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-741-1.
- [29] VESELÁ, Mária. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. Vyd. 3. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2004. ISBN 80-214-2567-9.
- [30] ŽÁČKOVÁ, K. *Využití technického konopí do kosmetiky proti akné*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 80 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Andrea Hároniková, Ph.D..
- [31] CANNAPEDIA [online]. [cit. 2019-05-17]. Dostupné z: <https://www.cannapedia.cz/cs-slovník-konopnych-pojmu/fenotyp>

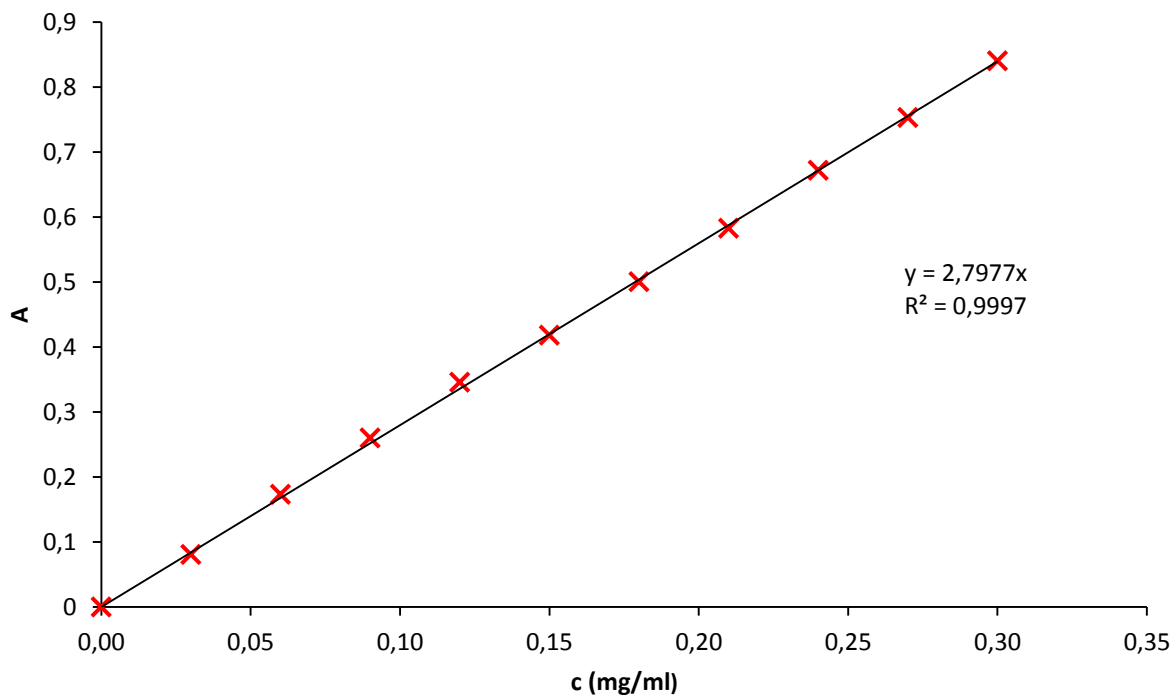
8 SEZNAM ZKRATEK

ABTS	(2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina))
BHI	brain heart infusion
CBC	kanabichromen
CBD	kanabidiol
CBG	kanabigerol
CBN	kanabinol
CBV	kanabivarin
CCM	Česká sbírka mikroorganismů
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LB	Luria-Bertani
NB	Nutrient Broth
PEG-40	Polyethylenglykolový derivát ricinového oleje
PG	pentylenglykol
SLES	Sodium laureth sulfate
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
THC	Δ^9 -tetrahydrokanabinol
UV	Záření v ultrafialové oblasti spektra
VIS	Záření ve viditelné oblasti spektra
YPD	Yeast Peptone Dextrose

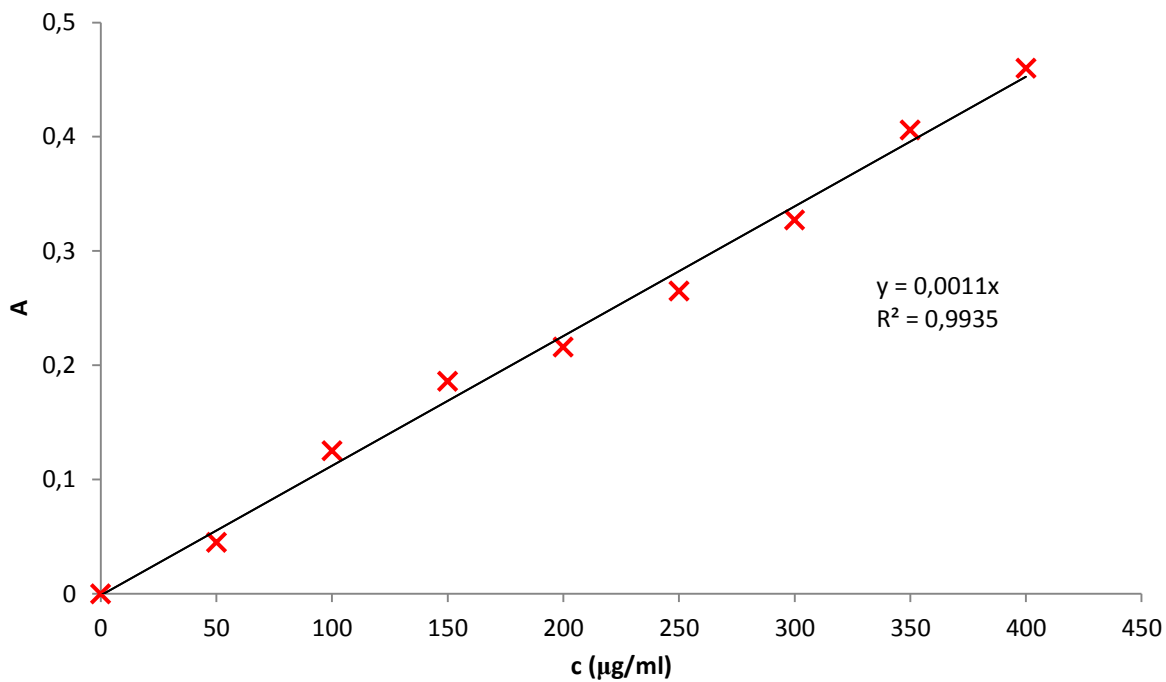
9 PŘÍLOHY



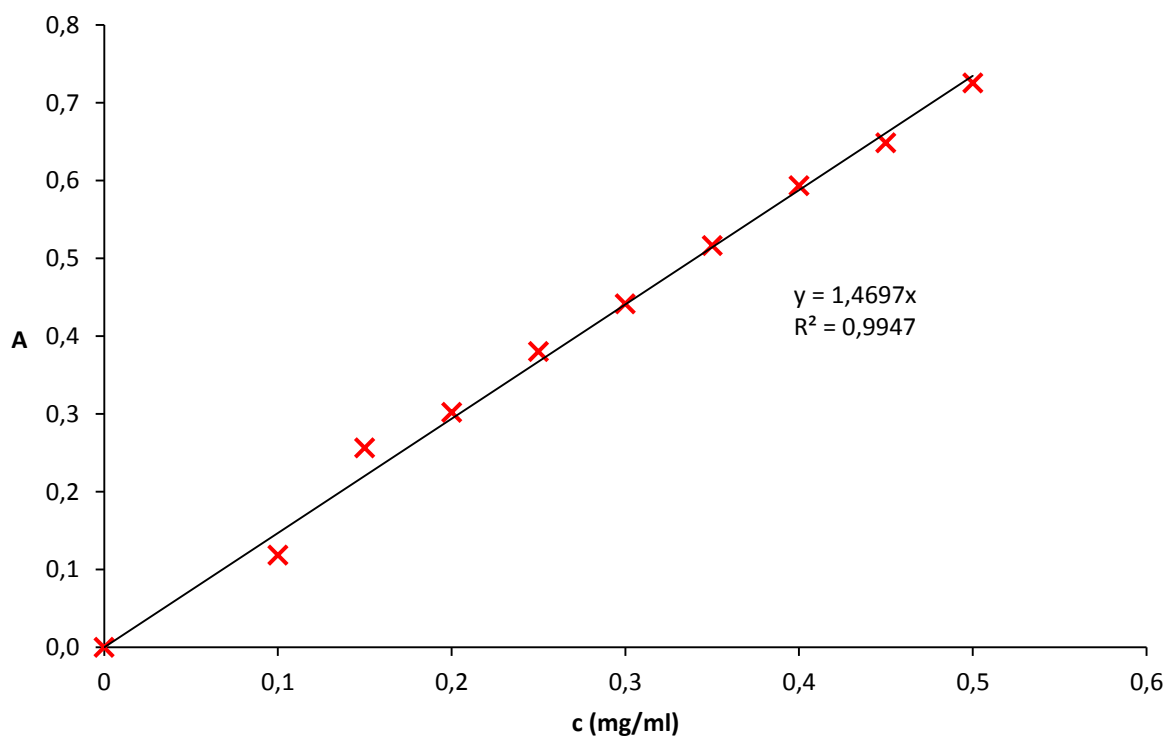
Příloha 1: Kalibrační závislost celkových polyfenolů



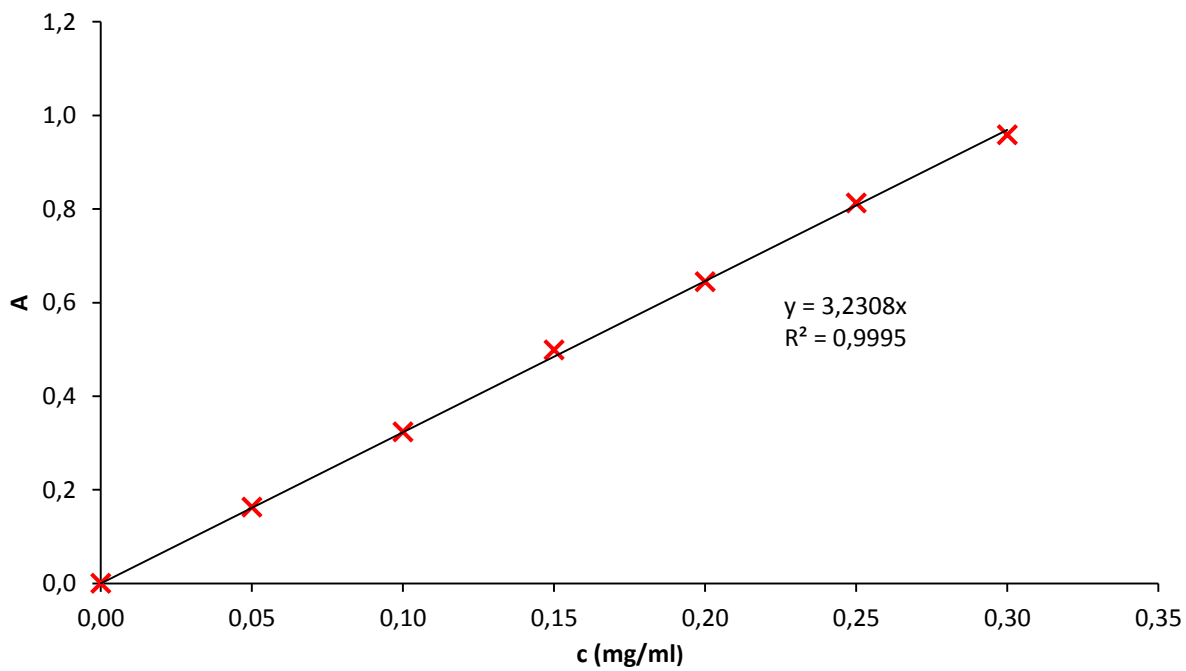
Příloha 2: Kalibrační závislost celkových flavonoidů



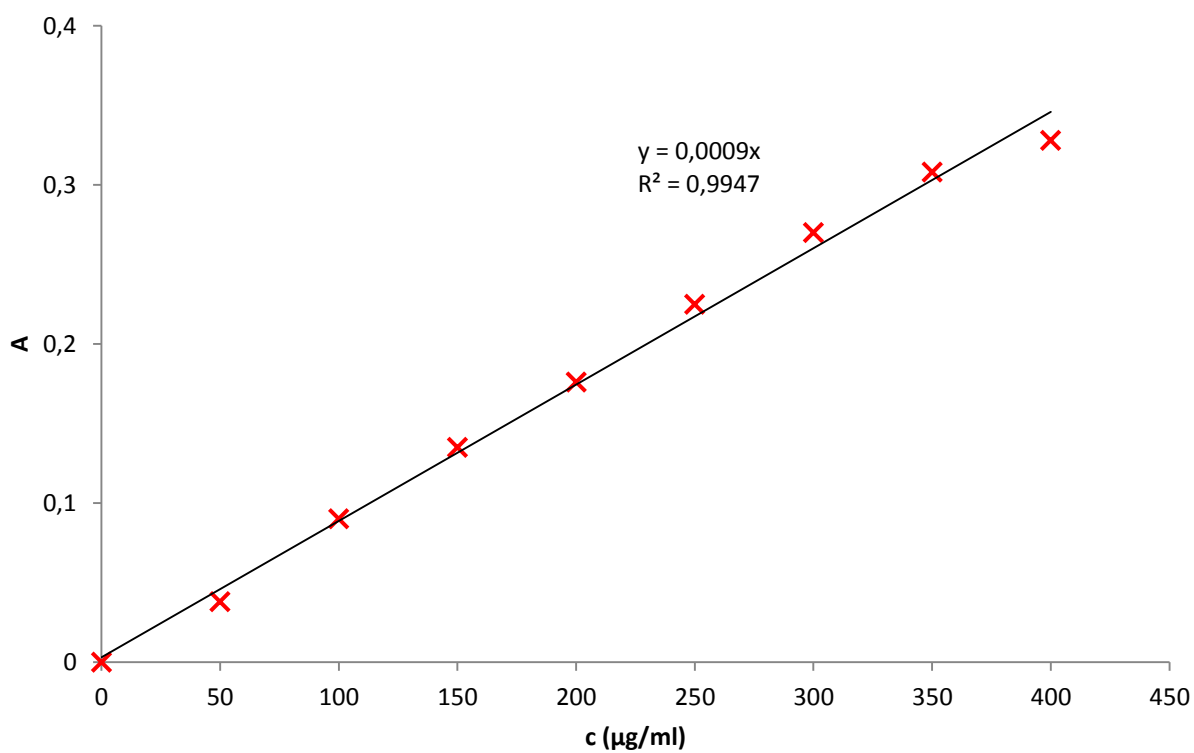
Příloha 3: Kalibrační závislost antioxidační aktivity



Příloha 4: Kalibrační závislost celkových polyfenolů pro extrakty v PG



Příloha 5: Kalibrační závislost celkových flavonoidů pro extrakty v PG



Příloha 6: Kalibrační závislost antioxidační aktivity pro extrakty v PG