

Účinky přípravků na bázi rostlinných kanabinoidů na pokožku

Bc. Alžběta Dudová

Diplomová práce
2021

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Alžběta Dudová
Osobní číslo: T19001
Studijní program: N0711A130011 Biomateriály a kosmetika
Studijní obor: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Účinky přípravků na bázi rostlinných kanabinoidů na pokožku

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Vypracujte literární studii, ve které budete charakterizovat konopí z botanického hlediska, zaměřte se na biologicky aktivní látky s kosmetickým potenciálem a aplikační možnosti v kosmetice s ohledem na současný stav legislativy.

II. Praktická část

1. Navrhněte a provedte experiment, který bude zahrnovat testování přípravků s konopím podávaným perorálně a topicky aplikovaným na pokožku vybraných dobrovolníků.
2. Sledujte pomocí dostupných metod vliv na biofyzikální parametry a texturu pokožky.
3. Získané výsledky zpracujte a formulujte závěry práce.

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] SMALL, E. Cannabis: A Complete Guide. Boca Raton: CRC Press, 2017.
- [2] BURLANDO, B., VEROTTA, L., CORNARA, L. a BOTTINI-MASSA, E. Herbal Principles in Cosmetics. London: CRC Press, 2010.
- [3] PAUL, R., WILLIAMS, R., HODSON, V., PEAKE, C. Detection of cannabinoids in hair after cosmetic application of hemp oil. Scientific Reports, 2019, 9:2582.
- [4] VOGL, CH. R., MÖLLEKEN, H., LISSEK-WOLF, G., SURBÖCK, A., JÖRG K. Hemp (Cannabis sativa L.) as a Resource for Green Cosmetics. Journal of Industrial Hemp, 2004, 9(1):51-68.
- [5] KARCHE, T., SINGH, M. R. The application of hemp (Cannabis sativa L.) for a green economy: a review. Turkish Journal of Botany, 2019, 43:710-723.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jana Pavlačková, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce se věnuje konopí a látkám v této rostlině obsažených – kanabinoidům. V samostatných kapitolách je rozebrán endokanabinoidní systém, aplikační možnosti konopí a aktuální legislativa.

V praktické části byl ověřován vliv perorálně podávaného přípravku, přípravku topicky aplikovaného na bázi konopí a jejich synergického účinku *in vivo* na vybrané biofyzikální parametry pokožky pomocí bioinženýrských neinvazivních metod. Z výsledku bylo zjištěno, že oba přípravky vykazují pozitivní vliv především na ztrátu transepidermální vody, množství vrásek a vyhlazení pokožky.

Klíčová slova: konopí, kanabinoidy, kosmetika, korneometrie, tewametrie, pH, kožní repliky, elasticita pokožky, hloubka vrásek

ABSTRACT

The theoretical part of the diploma thesis deals with hemp and the substances contained in this plant – cannabinoids. The endocannabinoid system, application possibilities of cannabis and current legislation are discussed in separate chapters.

In the practical part, the effect of orally administered preparation, topically applied preparation based on cannabis and their synergistic effect *in vivo* on selected biophysical parameters of the skin was verified using bioengineering non-invasive methods. As a result, it was found that both preparations have a positive effect mainly on the transepidermal water loss, the amount of wrinkles and smoothing of the skin.

Keywords: hemp, cannabinoids, cosmetics, corneometry, tewametry, pH, skin replicas, skin elasticity, depth of wrinkles

Touto cestou bych ráda srdečně poděkovala své vedoucí diplomové práce, paní Ing. Janě Pavlačkové, Ph.D. za nepostradatelné odborné rady, její ochotu, trpělivost a čas, který mi během vypracování mé práce věnovala. Dále bych chtěla velice poděkovat firmě Cannasan Pro s.r.o. za poskytnutí přípravků, které byly předmětem výzkumné části práce. Můj dík patří také všem dobrovolnicím, které se studie účastnily a v neposlední řadě mé rodině a mým blízkým, kteří mě vždy během celého studia podporovali.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 CHARAKTERISTIKA KONOPÍ.....	11
1.1 PŮVOD A HISTORIE VYUŽÍVÁNÍ KONOPÍ.....	11
1.2 BOTANICKÉ ZAŘAZENÍ ROSTLINY A JEJÍ DRUHY.....	12
1.3 PĚSTOVÁNÍ KONOPÍ	14
2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ KONOPÍ	16
2.1 KANABINOIDY	16
2.1.1 THC	21
2.1.2 CBD.....	21
2.1.3 CBG.....	22
2.1.4 CBC	23
2.1.5 CBN.....	23
2.2 BIOSYNTÉZA KANABINOIDŮ	24
3 ENDOKANABINOIDNÍ SYSTÉM.....	25
3.1 ENDOKANABINOIDNÍ SYSTÉM V KŮŽI	27
3.1.1 Efekt kanabinoidů na kůži.....	28
4 APLIKAČNÍ MOŽNOSTI KONOPÍ.....	29
4.1 FARMACEUTICKÉ APLIKACE KONOPÍ	29
4.2 DERMATOLOGICKÉ APLIKACE KONOPÍ.....	30
4.3 KOSMETICKÉ APLIKACE KONOPÍ.....	31
4.3.1 Konopný olej.....	31
4.3.2 Kosmetické přípravky obsahující konopný olej a kanabinoidy	33
5 SOUČASNÁ LEGISLATIVA	36
6 CÍLE PRÁCE	37
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	38
7 MATERIÁLY A METODIKA.....	39
7.1 TESTOVANÉ PŘÍPRAVKY	39
7.2 POUŽITÉ POMŮCKY A CHEMIKÁLIE	39
7.3 ZKUŠEBNÍ ZAŘÍZENÍ	40
7.3.1 Visioskop® PC 35.....	40
7.3.2 Stanice MPA 10 a sondy	40
7.3.3 Skin Visiometr® SV 700	42
7.4 SOUBOR DOBROVOLNIC.....	43
7.5 ORGANIZACE MĚŘENÍ.....	44
7.6 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH DAT	46

8	VÝSLEDKY A DISKUZE	48
8.1	VYHODNOCENÍ ÚČINKŮ TESTOVANÝCH PŘÍPRAVKŮ POMOCÍ VISIOSKOPU	48
8.2	VYHODNOCENÍ KORNEOMETRIE	50
8.3	VYHODNOCENÍ TEWAMETRIE	52
8.4	VYHODNOCENÍ HODNOT PH	54
8.5	VYHODNOCENÍ KOŽNÍCH REPLIK	56
8.5.1	Parametry drsnosti.....	57
8.5.2	Obraz kožní repliky	60
8.5.3	Anizotropní index.....	62
	ZÁVĚR	64
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	65
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	74
	SEZNAM OBRÁZKŮ	75
	SEZNAM TABULEK	76
	SEZNAM PŘÍLOH	77

ÚVOD

Konopí není zapotřebí dlouze představovat. Troufám si tvrdit, že většině z nás se v souvislosti s touto rostlinou vybaví forma populární lehké drogy. Na druhou stranu tato rostlina patří mezi cenné přírodní zdroje, které jsou možná doposud mírně přehlížené. Mnohými odborníky je dokonce označována za „záračnou“ rostlinu, která má mnohostranné využití. Z konopí lze vyrábět nespočet produktů, za zmínku stojí např. oděvy, obuv, papír, lana či izolace. Navíc konopí patří mezi tzv. superpotravinu. Semena obsahují olej bohatý na vitaminy A, D a E s příznivým poměrem ω -6 a ω -3 mastných kyselin. Širokospektrální účinky konopí jsou velmi atraktivní i pro aplikace ve farmacii či kosmetice.

V současné době se zvyšuje nejen tržní nabídka kosmetických přípravků obsahujících kanabinoidy, ale současně také poptávka po těchto produktech. Není se čemu divit, neboť jak bylo výše naznačeno, o účincích konopí v superlativěch se lze dočíst ve velkém množství článků a mnohými může být tato rostlina považována za jakýsi „všelák“. A z toho důvodu se v této práci společně podíváme, v jakých odvětvích nachází oprávněné uplatnění a jaká pozitiva nám uvedená rostlina mnohdy vyvolávající zapálenou diskuzi může nabídnout.

Předmětem praktické části diplomové práce je *in vivo* studie, ve které je zkoumán vliv přípravků na přírodní bázi obsahujících konopný olej a kanabinoidy na biofyzikální parametry pokožky.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA KONOPÍ

Konopí, latinsky *Cannabis* lze označit za jednu z nejvíce diskutabilních a kontroverzních rostlin, a to právě z důvodu, že mnohým lidem se v první řadě vybaví marihuana obsahující tetrahydrokanabinol (THC). Je nepopíratelným faktem, že tato rostlina je zdrojem výše zmínované psychotropní látky. Na druhou stranu ji nelze zatracovat pouze pro svůj psychoaktivní účinek, neboť obsahuje látky, které vykazují pozitivní vliv na lidský organismus a mají veliký potenciál uplatnitelný v mnoha odvětvích [1, s. 1].

1.1 Původ a historie využívání konopí

Nikoho nepřekvapí, že konopí je jednou z nejstarších rostlin a nelze s přesností určit dobu, kdy se začala psát jeho historie. Odhaduje se, že lidé využívají konopí už více než 12 tisíc let. Kus konopného vlákna, který byl objeven v moderním Iránu, pochází z doby 8 tisíc let př. n. l. Vědci sledovali stopy původu objevu, podle kterého odhadují, že pravlastí rostliny je Čína. Zde se konopí objevilo na konci poslední doby ledové, neboť ideální klimatické podmínky tohoto období zajišťovaly růst konopí jakožto plevele v blízkém okolí osad. Starověké civilizace využívaly stonky konopí jako ideální vlákna, ze kterých se vyráběly např. textilie, lana či rybářské sítě. Také zde byly objeveny první záznamy o léčivých účincích, kdy se semena rostlin lisovala za účelem získání konopného oleje, který dále sloužil jako anestetikum při operacích či ke tlumení bolesti a horeček [2, s. 57], [3, s. 255, 256], [4].

Do Evropy se konopí dostalo díky nomádským kmenům, avšak přesný rok není znám. Odhaduje se období okolo 2 tisíc let př. n. l. Termín *Cannabis* je odvozen od řeckého termínu *Kannabis*. Pedanius Dioscorides je autorem řeckého rukopisu léčivých rostlin *De materia medica*, kde zahrnul i kapitolu o konopí. V tomto spisu se doporučuje konopí používat např. k léčbě otoků kolem kloubů či zmírnění zánětu [4].

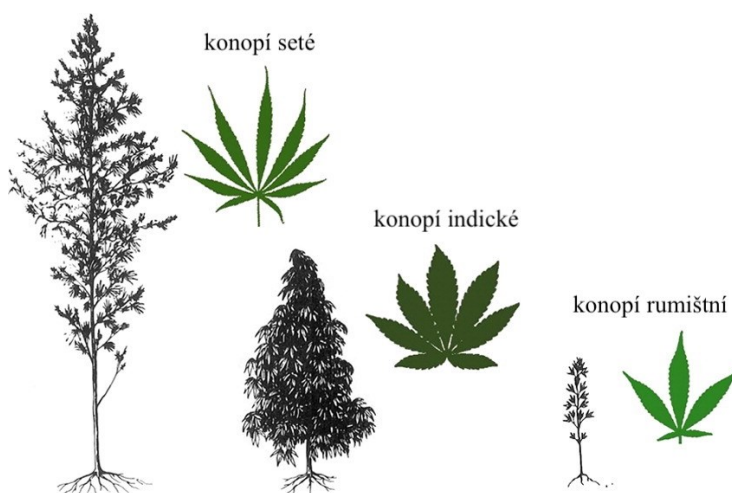
V době vrcholného novověku byl užíván hašiš, tedy produkt z konopí, jako levná náhražka alkoholu. V 19. století rostla spotřeba hašiše či marihuany právě kvůli jejich psychoaktivním účinkům. Tento trend vyústil v roce 1937 prohibicí v USA, kdy konopí bylo zařazeno na seznam zakázaných látek bez rozdílu jeho odrůdy. Následně v roce 1961 přidala OSN konopí k celosvětově zakázaným drogám [4], [5].

Dnes je konopí v některých zemích povoleno, příkladem je třeba Nizozemsko [6, s. 183]. V České republice byl uznán léčivý účinek konopí a je tedy možné v případě některých

diagnóz získat léčivé konopí na lékařský předpis. V posledních letech přibývá mnoho studií zaměřených na skupinu látek obsažených v konopí, a to na tzv. kanabinoidy. Dokonce i Světová zdravotnická organizace WHO označila kanabidiol (CBD) za neškodnou, a dokonce léčivou látku [5], [7].

1.2 Botanické zařazení rostliny a její druhy

Z botanického hlediska zařazujeme konopí do čeledi konopovité – *Cannabaceae*, kde mimo jiné spadá i chmel – *Humulus*. Dnes známe tři druhy této rostliny, které se s největší pravděpodobností vyvinuly na základě pěstění a selekce. Jde o konopí seté – *Cannabis sativa*, konopí indické – *Cannabis indica* a konopí rumištní – *Cannabis ruderalis* viz Obrázek 1 [8, s.13, 14], [9, s. 63, 64], [10].



Obrázek 1 Druhy konopí – upraveno podle [11]

Konopí seté

Nejrozšířenějším druhem je konopí seté, které může být označováno jako technické konopí. Jde o jednoletou dvoudomou rostlinu, což znamená, že tvoří buď samčí nebo samičí květenství (viz Obrázek 2). K opylení, tvorbě semen a plodů je tudíž nezbytné, aby samčí a samičí rostlina byla u sebe dostatečně blízko. Rostliny se od sebe liší v několika aspektech, kdy samčí rostlina bývá vyšší a má méně vyvinutý kořenový systém než rostlina samičí. Stonek konopí může dorůst až 6 m, u samčí rostliny bývá světlejší a především štíhlejší. Po celé délce až ke květenství je stonek osázen 3–13četnými konopnými listy, které mají kopinatý tvar. Květenství samčích rostlin bývá žluto-zelené a má 5 tyčinek. Samičí rostlina je mohutnější a její květenství má zelenou barvu, svrchní dvoupouzdrý semeník s jedním vysunutým vajíčkem a dvěma dlouhými nitkovými bliznami. Plody konopí jsou

jednosemenné nažky mající vejčitý tvar a tmavohnědou až černou barvu s typickým mramorováním [9, s. 66–68], [10].



Obrázek 2 Konopí seté – upraveno podle [1, s. 5]

Konopí indické

Poddruhem konopí setého je konopí indické, které obsahuje nejvíce kanabinoidů. Stonek dorůstá až 1,5 m s velkým množstvím větví, na kterých jsou 12četné listy. Semena jsou tmavší než u konopí setého. Tento druh bývá často spojován s jeho využíváním jako suroviny pro výrobu drogy, neboť v pryskyřici samičího květenství je vysoký obsah omamných látek (zhruba 8–12 % THC), ze kterých ve spoustě zemí vyrábějí hašiš. Pěstuje se např. v Turecku, Indii, Iránu, severní Africe, Sýrii, Mexiku či USA. Ve většině zemí je však jeho pěstování zakázáno, a to právě z výše zmiňovaných důvodů předcházení rozvoji toxikomanie neboli drogové závislosti [9, s. 64], [10].

Konopí rumištní

Posledním známým druhem je konopí rumištní, které roste volně v přírodě a bývá řazeno mezi plevelné druhy. Je ze všech druhů konopí nejméně náročné na podmínky jako je kvalita půdy, podnebí a vykazuje dobrou odolnost proti škůdcům. Vyrůstá do výšky 60 cm, stonek je tenký a spíše nevětvený, avšak listy této rostliny jsou vzhledem k její výšce poměrně velké. Obsah psychoaktivních látek je nízký, přičemž ze skupiny kanabinoidů je zde nejvíce přítomný CBD [9, s. 64], [10].

1.3 Pěstování konopí

Podle účelu využití rozlišujeme pěstování a sklizeň technického konopí pro [12, s. 6]:

- produkci vlákna,
- produkci semene,
- kombinované využití.

Nároky na půdu

Konopí lze pěstovat téměř všude v mírném pásmu. Problém činí půdy trvale zamokřené či naopak přesušené. Rostlina preferuje hlinité či hlinitopísčité hluboké půdy, které mají dostatek živin, a to zejména dusíku a draslíku [12, s. 20]. Konopí patří k náročnějším rostlinám na vodu, potřebuje zhruba 1,5krát více vody než pšenice nebo oves [13].

Rostlina nemá zvláštní požadavky na její předplodinu, a navíc díky své schopnosti dobře konkurovat a potlačovat plevel je sama vhodnou předplodinou. Často se seje po okopaninách, obilovinách, kukuřici, luskovinách atd. [12, s. 20], [13].

Setí rostliny

Pro dobré pěstování konopí je třeba zajistit jarní přípravu půdy s přihnojováním. Před samotným setím je nutné povrch půdy urovnat. Setí probíhá od dubna do května. Rostlina se vysévá do řádků, které jsou od sebe vzdáleny 10–15 cm, pokud je pěstována na vlákno. V případě pěstování konopí za účelem získání semen se zasévá dál od sebe, a to v rozmezí 50–70 cm. Zasévá se do hloubky zhruba 3–4 cm. Následuje zavláčení případně zaválení lehkými válci [12, s. 21], [13].

Ošetření proti škůdcům

Jak jsem již výše zmínila, konopí figuruje skvělou konkurenceschopností vůči plevelům. Nicméně může být napadeno různými chorobami či škůdci. Nejčastějšími škůdci jsou např. dřepčík chmelový, mšice konopná či zavíječ kukuřičný. Z chorob se nejvíce vyskytuje plíseň šedá či hnědá způsobující skvrnitost listů. Těmto chorobám se předchází vysetím mořeného osiva a případným použitím herbicidů ihned po vzejití rostliny [13].

Sklizeň

V minulosti bylo konopí sklízeno vždy jako celá rostlina ručně pomocí kos. Jednotlivé stonky byly svazovány k sobě do menších balíků, které byly ponechány pár dní na poli k předsušení. Následné zpracování spočívalo v máčení stonků, jež napomáhalo množení

bakterií, které rozkládaly pektinové vrstvy kolem vláken. Po tomto procesu mohla být máčená konopná sláma opět vysušena a podrobena již finálnímu tírenskému zpracování. Finálním produktem byla dlouhá vlákna, která se především využívala pro textilní zpracování [12, s. 4–6].

Dnes se však od ruční sklizně upouští a k sečení jsou využity speciální stroje. Rozlišujeme sklizeň na vlákno, kdy rovnou při sečení jsou stonky zkracovány na délku 50–60 cm. Zkrácené stonky jsou váleny a ukládány do řádků. Již výše zmiňovaný proces máčení je zde stejně důležitý, nicméně dnes se nejčastěji stonky nechají ležet na poli zhruba po dobu 5 týdnů. Takto na ně působí vnější vlivy jako např. déšť či ranní rosa. Jakmile dojde ke snadnému oddělení vláken, stonky se slisují do balíků, které jsou vysušeny, převezeny na linku ke zpracovateli, kde jsou upraveny na tírenských strojích [12, s. 5, 6], [14]. Pokud sklízíme konopí za účelem zisku semen, je nezbytné správně určit dobu sklizně. Semena musejí být zhruba ve své 70% zralosti. To se nejlépe určuje podle jejich vzhledu, neboť se začínají mírně tříštit, v dolní polovině jsou již plně vyzrálá, avšak ve vrchní části stále zelená [14]. Semena jsou dopravena do mlátícího bubnu. Po vymláčení jsou semena čištěna a tříděna na sítě. Pro skladování semen je nezbytné provést jejich dosušení do jednoho dne od sklizně. Jednotlivá semena mají totiž mírné odchylky v jejich stupni zralosti a dosušením se předchází jejich zapaření, tvorbě plísní a tím jejich znehodnocení [12, s. 5, 6].

Povolené odrůdy

Je třeba uvést, že dle ustanovení § 24 zákona č. 167/1998 Sb., Zákon o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „Zákon o návykových látkách“) je v České republice zakázáno pěstovat odrůdy konopí, které mohou obsahovat více než 0,3 % látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů s výjimkou pěstování na základě licence udělené podle tohoto zákona [15]. Dále Zákon o návykových látkách v §29 upravuje ohlašovací povinnost osob při pěstování technického konopí na ploše větší než 100 m², kdy je třeba tuto skutečnost ohlásit místnímu celnímu orgánu [15]. Nicméně veškeré dnes pěstované druhy konopí pro léčebné účely mají vyšší obsah THC a může je tedy pěstovat pouze právnická či podnikající fyzická osoba, která získala licenci od Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL). Tato licence je udělena na základě zadávacího řízení provedeného dle zákona č. 134/2016 Sb., Zákon o zadávání veřejných zakázek, ve znění pozdějších předpisů [16].

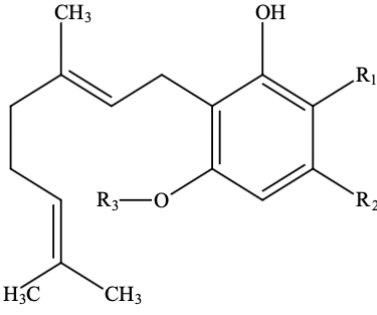
2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ KONOPÍ

V konopné rostlině byla prokázána přítomnost 483 různých sloučenin. Ve složení nalezneme např. 20 jednoduchých kyselin, 35 sacharidů, 18 aminokyselin, dále také proteiny, alkoholy, aldehydy, vitaminy, pigmenty a další. Nejhojnější třídou látek čítající cca 140 členů jsou terpenoidy. Typickými příklady jsou humulen, α -pinen, β -pinen, β -karyophylen, myrcen či limonen.

2.1 Kanabinoidy

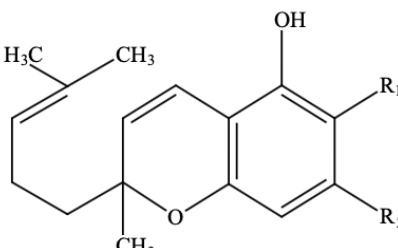
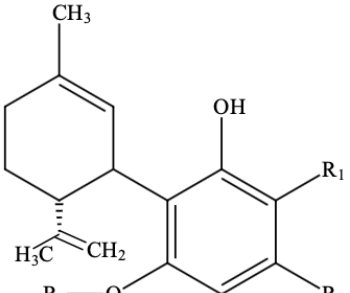
Ovšem existuje skupina látek, která je zcela jedinečná právě pro konopí. Jde o kanabinoidy (fyto-kanabinoidy), kterých bylo v současné době klasifikováno 66 a jsou rozděleny do 10 podtříd viz Tabulka 1. Jsou odvozeny od tří základních sloučenin, a to od dibenzopyranu – např. THC, kanabidiol (CBD), chromanu – kanabichromen (CBC) a geraniolu – kanabigerol (CBG). Společným znakem kanabinoidů je aromatický šestičlenný kruh se substituenty ležícími na sousedních atomech vodíku. Z důvodu zaměření praktické části diplomové práce budou některé z kanabinoidů popsány podrobněji níže [17, s. 17].

Tabulka 1a) Klasifikace kanabinoidů včetně příkladů jednotlivých sloučenin – upraveno podle [17, s. 18]

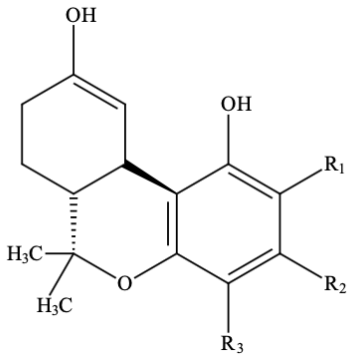
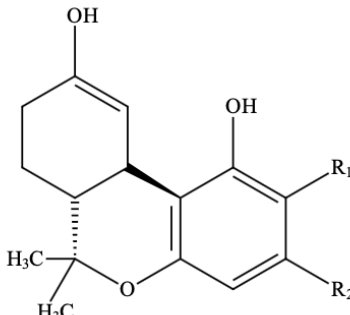
Příklady sloučenin	Chemická struktura	Vlastnosti/Využití
1. Kanabigerolová třída		
kanabigerolová kyselina (CBGA)	 <p style="text-align: center;">$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$</p>	antibiotikum
kanabigerol (CBG)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	antibiotikum antifungicidum antiflogistikum analgetikum

Veškeré strukturální vzorce v této diplomové práci byly vytvořeny v programu ChemDoodle.

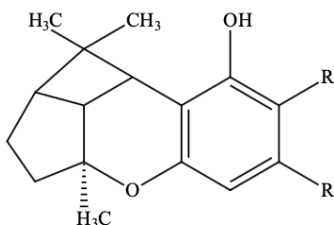
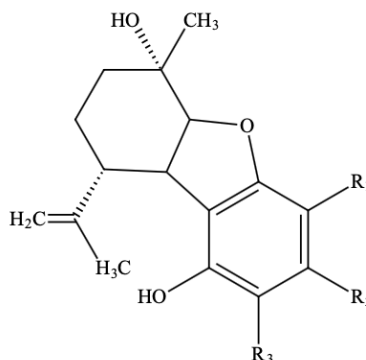
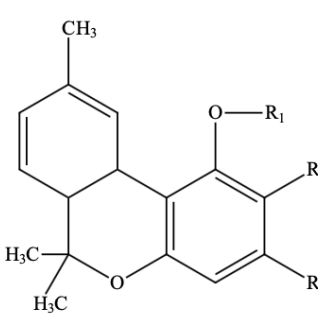
Tabulka 1b) Klasifikace kanabinoidů včetně příkladů jednotlivých sloučenin – upraveno podle [17, s. 19]

2. Kanabichromenová třída		
kanabichromenová kyselina (CBCA)	 <p>$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$</p>	
kanabichromen (CBC)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$	antibiotikum antifungicidum antiflogistikum analgetikum
3. Kanabidiolová třída		
kanabidiolová kyselina (CBDA)	 <p>$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$</p>	antibiotikum
kanabidiol (CBD)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	antioxidant antipsychotikum anxiolytikum antiflogistikum analgetikum antipasmotikum

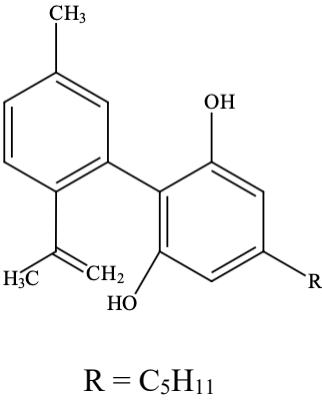
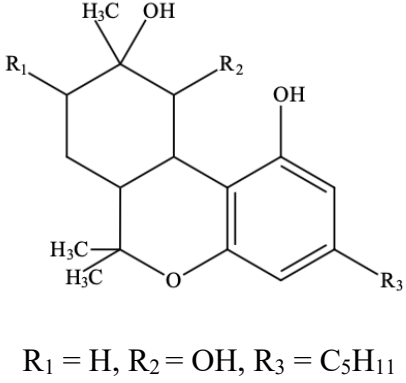
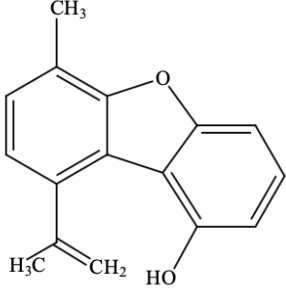
Tabulka 1c) Klasifikace kanabinoidů včetně příkladů jednotlivých sloučenin – upraveno podle [17, s. 20–22]

4. Delta-9-tetrahydrokanabinolová třída		
delta-9- tetrahydrokanabinolová kyselina A (THCA-A)	 <p>$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$</p>	
delta-9- tetrahydrokanabinolová kyselina B (THCB-B)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{COOH}$	
delta-9- tetrahydrokanabinol (THC)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	antioxidant antiflogistikum analgetikum antiemetikum euforiant
5. Delta-8-tetrahydrokanabinolová třída		
delta-8- tetrahydrokanabinolová kyselina (Δ^8 -THCA)	 <p>$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$</p>	
delta-8- tetrahydrokanabinol (Δ^8 -THC)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$	podobné THC (méně silné)

Tabulka 1d) Klasifikace kanabinoidů včetně příkladů jednotlivých sloučenin – upraveno podle [17, s. 22, 23]

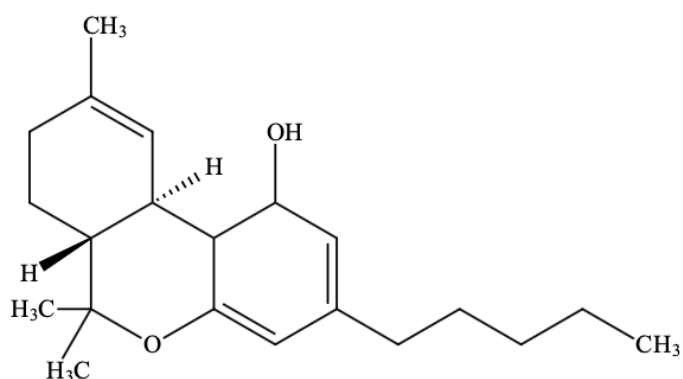
6. Kanabicyklolová třída		
kanabicyklolová kyselina (CBLA)	 <p>$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$</p>	
kanabicyklol (CBL)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$	
7. Kanabielsoinová třída		
kanabielsoiová kyselina A (CBEA-A)	 <p>$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$</p>	
kanabielsoiová kyselina B (CBEA-B)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{COOH}$	
kanabielsoin (CBE)	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	
8. Kanabinolová a kanabinodiolová třída		
kanabinolová kyselina (CBNA)	 <p>$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{COOH}, R_3 = \text{C}_5\text{H}_{11}$</p>	

Tabulka 1e) Klasifikace kanabinoidů včetně příkladů jednotlivých sloučenin – upraveno podle [17, s. 23–25]

kanabinol (CBN)	$R_1 = H, R_2 = H, R_3 = C_5H_{11}$	antibiotikum antikonvulsivum antiflogistikum sedativum
kanabinodiol (CBND)	 <p>$R = C_5H_{11}$</p>	
9. Kanabitolová třída		
kanabitol (CBT)	 <p>$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = C_5H_{11}$</p>	
10. Smíšená kanabinoidová třída		
dehydrokanabifuran (DCBF)		

2.1.1 THC

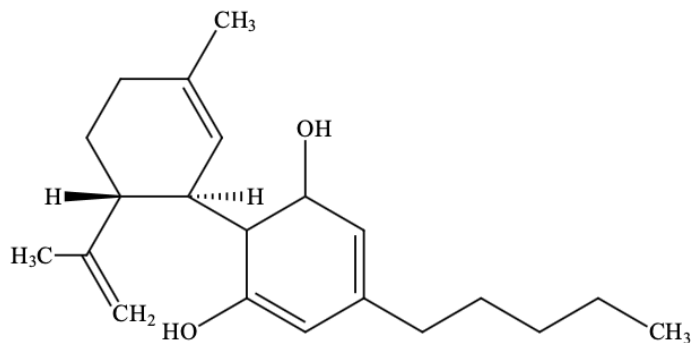
Nejznámější a hlavní kanabinoid THC neboli delta-9-tetrahydrokanabinol (viz Obrázek 3) byl objeven až roku 1964 [18]. Jde o psychoaktivní složku obsaženou především v pryskyřici, sušených listech a samičích květech veškerých odrůd konopí. Liší se pouze koncentrací, přičemž v technickém konopí je jeho obsah zhruba 0,2 %. Zatímco největší obsah THC mají vyšlechtěné hybridy, které právě z tohoto důvodu bývají zneužívány jakožto „lehké“ drogy. Na druhou stranu má protizánětlivé, analgetické a antioxidační účinky. Využívá se k léčbě astmatu či nespavosti. Pomáhá v boji proti nechutenství, snižuje nevolnost, nitrooční tlak a může být použit k léčbě glaukomu. Ovlivňuje také stavbu kostí, plodnost, růst nádorů či motorickou koordinaci [1, s. 340, 341], [19], [20].



Obrázek 3 Strukturální vzorec THC [vlastní zdroj]

2.1.2 CBD

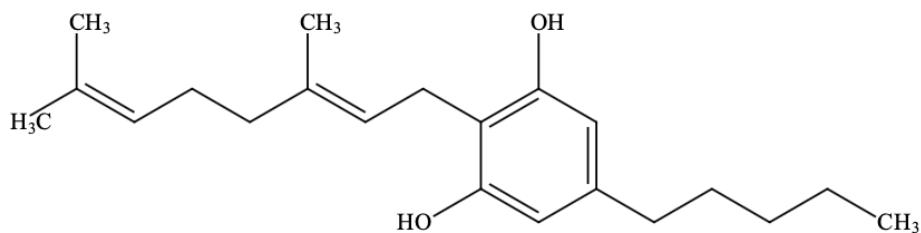
Druhým nejrozšířenějším kanabinoidem je zajisté CBD (viz Obrázek 4), který na rozdíl od výše zmíněného THC postrádá psychoaktivní účinky. Spolu s jeho prekurzorem – kyselinou kanabidiolovou je hlavní složkou technického konopí. Kanabidiol má velmi silné antioxidační a protizánětlivé schopnosti. Dnes se využívá především pro svou vysokou farmakologickou hodnotu, neboť jej lze využít k léčbě mnoha onemocnění a symptomů. Předepisuje se např. jako anxiolytikum či antipsychotikum, což jsou léky určené k léčbě psychóz či úzkostí. Využívá se k léčbě Alzheimerovy choroby, cukrovky, epilepsie, artritidy, obezity či ADHD. Nelze opomenout velký potenciál CBD při terapii kožních onemocnění. Taktéž byla prokázána jeho antimikrobiální schopnost, kdy docházelo k inhibici růstu G⁺ bakterií, např. *Staphylococcus aureus* či *Streptomyces griseus* [1, s. 341–343], [17, s. 18].



Obrázek 4 Strukturální vzorec CBD [vlastní zdroj]

2.1.3 CBG

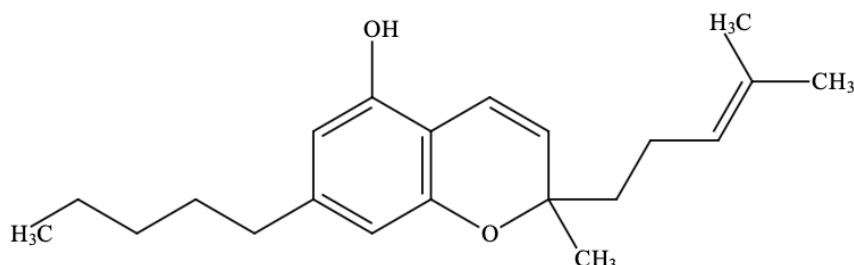
Kanabigerol (viz Obrázek 5) byl prvním identifikovaným kanabinoidem a zároveň vzniká v rostlině ze všech kanabinoidů nejdříve, což z něj dělá prekurzor ostatních. Jde o nepsychotropní látku, která má sedativní, antibiotické, fungicidní a antidepresivní účinky. Taktéž snižuje nitrooční tlak [1, s. 344]. Borelli a kol. [21] prokázali ve své studii terapeutické účinky CBG na střevní zánětlivá onemocnění. Studie byla prováděna na laboratorních krysách a bylo doporučeno její další experimentální prověření na pacientech. Tentýž kolektiv vědců [22] se zabýval účinkem CBG na rakovinu tlustého střeva, kdy byl zjištěn pozitivní vliv na inhibici růstu nádorových buněk a doporučují zvážení využití CBG k prevenci a léčbě kolorektálního karcinomu.



Obrázek 5 Strukturální vzorec CBG [vlastní zdroj]

2.1.4 CBC

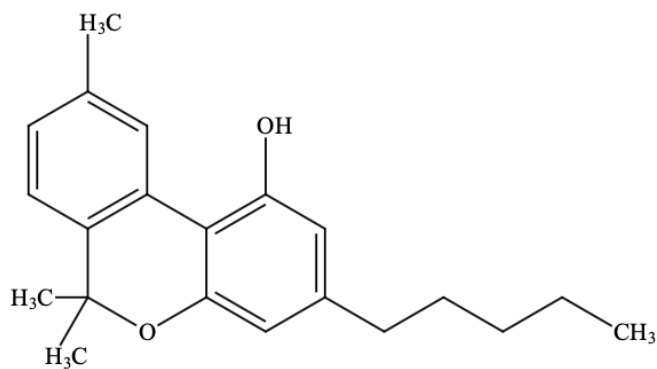
Kanabichromen (viz Obrázek 6) má velmi podobné účinky jako výše popsané CBG, působí antimikrobiálně, protizánětlivě, fungicidně a antidepressivně [1, s. 344].



Obrázek 6 Strukturální vzorec CBC [vlastní zdroj]

2.1.5 CBN

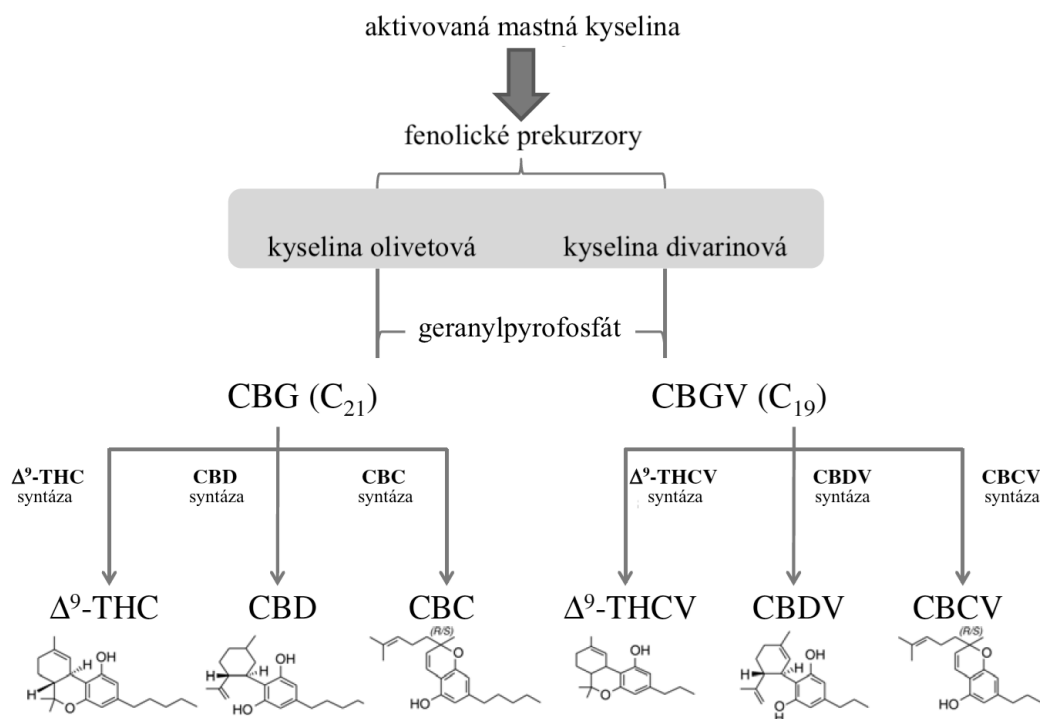
Kanabinol (viz Obrázek 7) vzniká rozpadem molekul THC vlivem slunečního záření a oxidace. Přirozeně se tedy v rostlině nevyskytuje [1, s. 343]. Má potenciál na uplatnění v lékařství, poněvadž vykazuje antikonvulzivní a protizánětlivé účinky. Taktéž pomáhá k růstu nové kůže, snižuje srdeční frekvenci či inhibuje agregaci trombocytů [23].



Obrázek 7 Strukturální vzorec CBN [vlastní zdroj]

2.2 Biosyntéza kanabinoidů

K syntéze kanabinoidů dochází prostřednictvím prekurzorů mastných kyselin a řady enzymů. Dva hlavní fyto-kanabinoidy THC a CBD mají společný prekurzor, kterým je kyselina kanabigerolová, která vzniká kondenzací kyseliny olivetové a geranylpyrofosfátu. Z kyseliny kanabigerolové vzniká oxidativní cyklizací kyselina tetrahydrokanabinolová za přítomnosti příslušného enzymu THC syntázy. Následně kyselina tetrahydrokanabinolová dekarboxyluje na THC. Obdobně z kyseliny kanabidiolové vzniká CBD. Další kanabinoidy jsou považovány za oxidační produkty. Přehledné schéma biosyntézy základních fyto-kanabinoidů je uvedeno na Obrázku 8 [24].



Obrázek 8 Biosyntéza hlavních fyto-kanabinoidů – upraveno podle [24]

3 ENDOKANABINOIDNÍ SYSTÉM

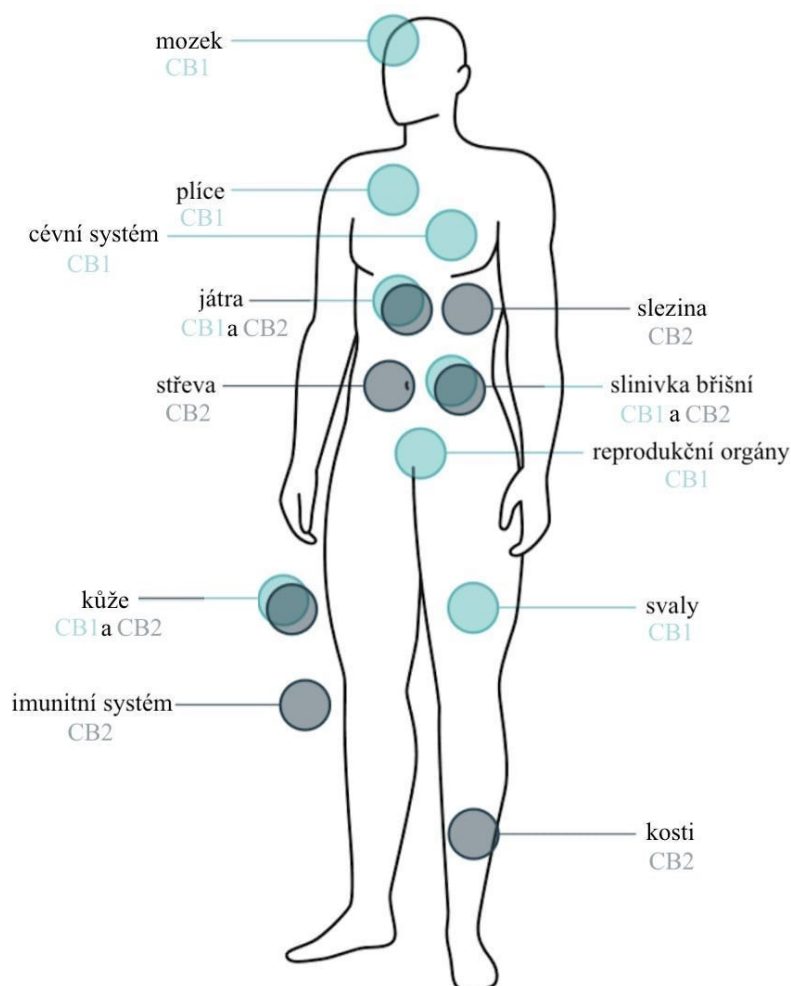
Jak samotný název naznačuje, endokanabinoidní systém (EKS) se vyskytuje uvnitř těla, a to prakticky všude – v centrální nervové soustavě, hormonálních žlázách, tepnách, plicích, srdci, očích, kostech, zažívacím ústrojí a v kůži [25]. Jde tedy o komplexní signalizační systém zastávající významnou roli v celém organismu. Je složen z kanabinoidních receptorů, příslušných ligandů – endokanabinoidů a enzymů zodpovědných za jejich syntézu a degradaci [26].

Donedávna byl mechanismus účinku kanabinoidů velkou neznámou. Vycházelo se z předpokladu, že kanabinoidy podobně jako alkohol účinkují na lipidové membrány nervových buněk [25].

Avšak koncem 80. let byly v organismu objeveny kanabinoidní receptory typu CB1 a CB2, které v současné době patří mezi nejlépe prozkoumané kanabinoidní receptory vůbec. V obou případech jde o receptory spojené s G-proteinem. Receptory CB1 jsou lokalizovány v CNS, přičemž v bazálních gangliích, určitých částech mozkové kůry a v hipokampu je jejich největší koncentrace. Dále jsou CB1 přítomny v játrech, plicích a alveolárních buňkách, ve svalech, adipocytech a kůži. Zatímco CB2 receptory se nacházejí především v buňkách a tkáních imunitního systému a ve vysoké míře jsou obsaženy v B lymfocytech. V CNS by přítomnost receptorů typu CB2 u zdravého jedince vůbec neměla být. Oproti tomu v případě zanícení mozkové tkáně byla jejich přítomnost popsána např. v mikroglíích a astrocytech [26], [27], [28]. Přehled výskytu CB1 a CB2 receptorů je přehledně uveden na Obrázku 9.

Dalším podstatným objevem sloužícím k pochopení mechanismu EKS je tělu vlastní kanabinoid pojmenovaný anandamid (AEA), který byl poprvé izolován roku 1992 týmem vědců na Hebrejské univerzitě v Tel Avivu, ve kterém byl mimo jiné i český vědec Lumír Ondřej Hanuš [25]. Pojmem kanabinoid rozumíme látku, která je schopná navázat se na kanabinoidní receptory EKS. Jaký účinek budou kanabinoidy vykazovat se odvíjí od povahy ligandu – mohou být agonistou receptoru (aktivují receptory), antagonistou receptoru (obsadí receptor, ale nezpůsobí jeho aktivaci) a v neposlední řadě mohou figurovat jako inverzní agonista (způsobí změny opačné než agonista) [28]. Také je důležité si uvědomit, že kanabinoidy rozdělujeme do tří kategorií podle jejich původu. Může jít o synteticky připravené kanabinoidy, dále o fyto-kanabinoidy, které jsou rostlinného původu a byla jim věnována předchozí kapitola a v neposlední řadě o endokanabinoidy produkované savčím

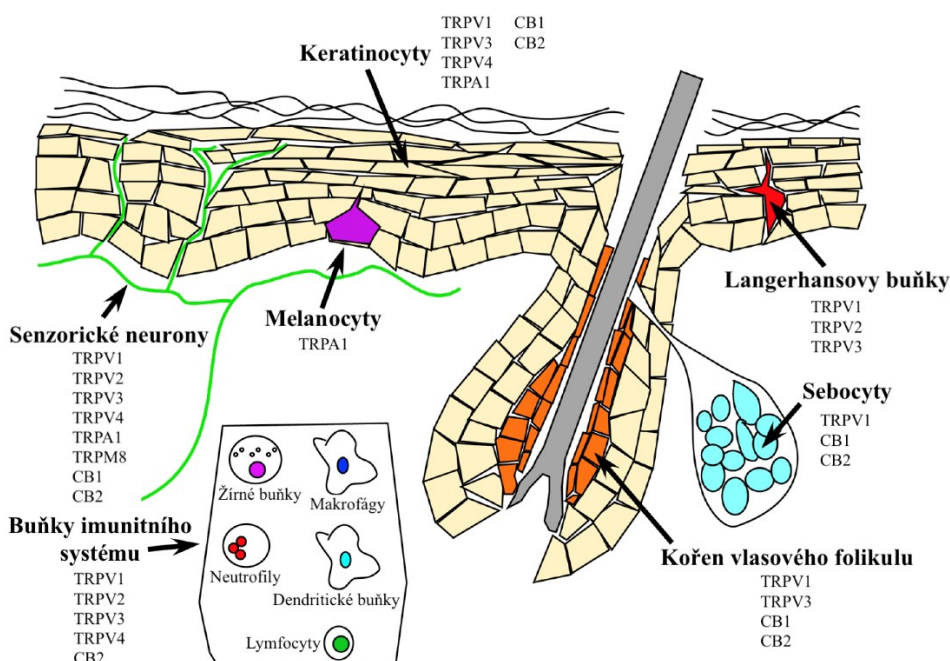
organismem, kde řadíme právě výše zmíněný AEA. Druhým nejprostudovanějším endokanabinoidem je 2-arachidonoylglycerol (2-AG). V obou případech hovoříme o amidech kyseliny arachidonové, což je jedna z nejvýznamnějších mastných kyselin (MK) v mozku. Jde tedy o lipofilní látky lišící se od jiných neuromediátorů syntézou *de novo*, což znamená, že se v organismu syntetizují v neuronech podle aktuální potřeby (v odezvě na postsynaptickou depolarizaci či aktivaci receptorů) [29]. Depolarizace membrány neuronů vede k vylití AEA a 2-AG do mezibuněčného prostoru, z něhož jsou však odváděny a zpětně vstřebány do buňky. Zde dochází v případě AEA k hydrolytickému rozkladu enzymem amidhydrolázou mastných kyselin (FAAH) na kyselinu arachidonovou a ethanolamin, zatímco k degradaci 2-AG dochází pomocí monoacylglycerol lipázy (MAGL) [30].



Obrázek 9 Rozmístění kanabinoidních receptorů
v lidském těle – upraveno podle [31]

3.1 Endokanabinoidní systém v kůži

CB1 receptor je v kůži přítomen především v keratinocytech, v buňkách vlasových folikulů, v mazových žlázách a sensorických neuronech. Zatímco CB2 receptor se vyskytuje navíc i v imunitních buňkách. Nicméně mnoho účinků kanabinoidů na kůži nemůže být vysvětleno pouze na základě těchto dvou receptorů. V kůži jsou taktéž přítomny tzv. TRP (Transient Receptor Potential) iontové kanály, které také mohou být aktivovány či inhibovány endokanabinoidy, fytokanabinoidy a samozřejmě také syntetickými kanabinoidy. Přehled umístění TRP kanálů a jednotlivých CB receptorů v kůži je uveden na Obrázku 10 [32], [33].



Obrázek 10 TRP kanály a CB receptory v kůži – upraveno podle [32]

TRP kanály patří do skupiny membránových proteinů účastnících se velkého množství chemických a fyzikálních podnětů. Dokáží modulovat vstup iontů a zprostředkovávat různé procesy nervové signalizace spojené s teplem, tlakem, pH, ale také s vnímáním chutě, vůně, bolesti a s viděním. Mnoho nemocí je částečně způsobeno právě dysfunkcí TRP kanálů, což vede k neuropatickým bolestem a zánětlivým onemocněním. A právě při hledání nových způsobů léčby bylo zjištěno, že určitá podskupina TRP kanálů, může být modulována kanabinoidy. Tyto podskupiny jsou TRP vanilloid (TRPV), TRP ankyrin (TRPA) a TRP melastatin (TRPM). K dnešnímu dni je známo 6 TRP kanálů z těchto podskupin, které vykazují kanabinoidní aktivitu a dle mnohých vědců jsou považovány za ionotropní kanabinoidní receptory. Jde o TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1 a TRPM8 [34].

3.1.1 Efekt kanabinoidů na kůži

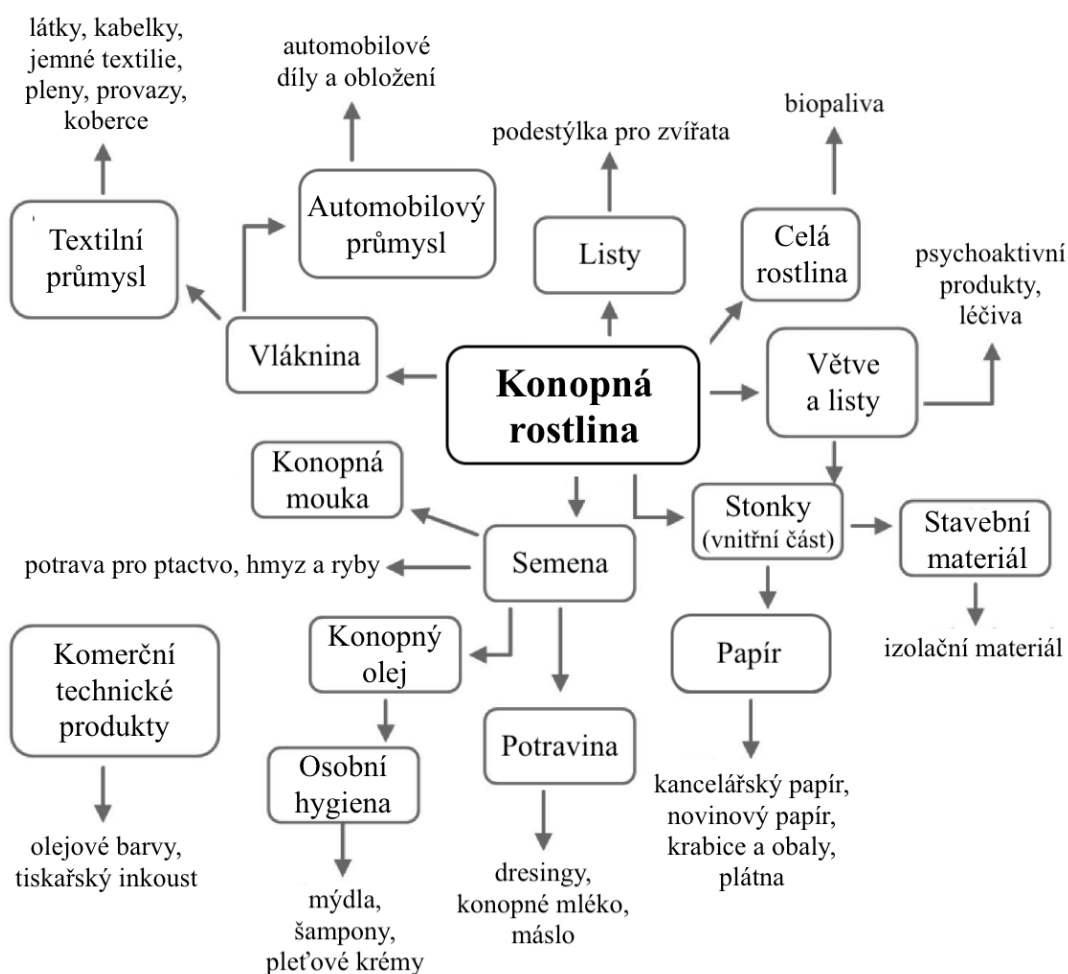
Velmi podstatnou vlastností pokožky je proliferace, což je schopnost neustálé obnovy. A právě v nejspodnější vrstvě pokožky zvané bazální vrstva (*stratum basale*) dochází k buněčnému dělení a tvorbě nových buněk. Největší zastoupení mají v pokožce keratinocyty, což jsou rohovějící buňky dlaždicového epitelu. Keratinocyty prochází přirozeným procesem zvaným keratinizace, kdy se postupně diferencují a migrují směrem na povrch, kde tvoří následně nejsvrchnější tzv. rohovou vrstvu (*stratum corneum*) [32].

Kanabinoidy ovlivňují epidermální homeostázu a to tak, že potlačují proliferaci a diferenciaci keratinocytů a zároveň podporují jejich apoptózu. Mechanismus těchto účinků spočívá v transkripční supresi genů důležitých pro diferenciaci keratinocytů pomocí methylace jejich receptorů. Např. u psoriázy neboli lupénky, což je hyperproliferativní onemocnění kůže, při kterém jsou proteiny keratin 6 a keratin 16 nadměrně upregulovány, může aktivace receptoru CB1 potlačovat expresi těchto dvou poškozených keratinů. Z tohoto důvodu mohou být kanabinoidy využívány při léčbě některých kožních onemocnění jako např. výše zmíněné psoriázy. Bylo také prokázáno, že kanabinoidy moduluji tumorigenezi, tedy vznik, vývoj a růst kožních nádorů. Další nepopiratelnou schopností kanabinoidů je regulace bolesti a s tím související svědění pokožky. Mechanismus tohoto účinku je založen na stimulaci CB2 receptorů v keratinocytech, což vede k uvolňování analgetických opioidních peptidů. Dále kanabinoidy vykazují protizánětlivý účinek na kůži, a to prostřednictvím působení na produkci keratinocytových cytokinů či modulací imunitních buněk. Bylo prokázáno, že THC tlumí alergickou kontaktní dermatitidu u myši, které byly senzibilizovány a následně vystaveny působení haptenu dinitrofluorobenzenu (DNFB). Naopak pokud byly farmakologicky inhibovány či vyraženy receptory CB1 a CB2 došlo k významnému zvýšení dermatitidy [32], [33]. Další studie [35], [36] uvádí možnosti léčby atopického ekzému pomocí palmitoylethanolamidu (PEA), který patří do stejné chemické třídy jako anandamid a taktéž vykazuje protizánětlivé účinky na pokožku. Nicméně protizánětlivý účinek PEA nedomoduluje receptory CB, ale naopak souvisí s TRP kanály. Mimo jiné mohou kanabinoidy zprostředkovat částečně pomocí kanálů TRP a CB receptorů modulační účinky na vývoj a funkci vlasových folikulů a mazových žláz. Např. anandamid a THC potlačují prodlužování lidských vlasů a podporují regresi vlasových folikulů [32], [33].

S objevením rozsáhlé fyziologické funkce EKS byl zahájen výzkum ligandů kanabinoidních receptorů, které by mohly sloužit k terapeutickým účelům [37].

4 APLIKAČNÍ MOŽNOSTI KONOPÍ

Jak je z výše popsaných kapitol patrné, konopná rostlina a látky v ní obsažené nacházejí uplatnění v různých odvětvích, jak ukazuje Obrázek 11. Za zmínku určitě stojí např. textilní, automobilový, chemický či papírenský průmysl. S ohledem na téma této diplomové práce bude stěžejní část následující subkapitoly věnována uplatnění konopí ve farmaceutické, dermatologické a kosmetické oblasti.



Obrázek 11 Schéma možných využití konopné rostliny – upraveno podle [38]

4.1 Farmaceutické aplikace konopí

Jeden z prvních klíčových účinků, pro který se kanabinoidy začaly využívat bylo snížení nevolnosti a zvracení po chemoterapii. Tento antiemetický efekt vykazuje synteticky připravené THC rozpuštěné v sezamovém oleji, které je registrované jakožto léčivo ve formě želatinových kapslí pod obchodním názvem Marinol v USA a Kanadě. Na stejném principu funguje léčivo Cesamet, jehož aktivní látkou je synteticky připravený nabilon, který

je analogem THC. Princip potlačení motility trávicího traktu spočívá v umístění receptorů CB1 na nervových zakončeních nervové pleteně ve stěně trávicí trubice a zároveň v inhibici uvolňování acetylcholinu. Nicméně využívání kanabinoidů v případě této zdravotní indikace se v posledních letech snižuje v důsledku zavedení jiných moderních metod, které nevykazují nežádoucí psychotropní účinky. Marinol se taktéž využívá při léčbě anorexie spojené s virovým onemocněním AIDS, neboť THC podporuje chuť k jídlu [39], [40].

Významný potenciál mají kanabinoidy při léčbě glaukomu (zelený zákal, který je hlavní příčinou nevratné slepoty). Díky přítomnosti CB1 receptorů na nitroočních strukturách lze vyvinout léky na bázi anandamidu, které následně regulují a udržují normální oční tlak [41]. Dále byla prokázána antioxidační schopnost u THC a CBD, které dokonce vykazovalo silnější účinky než kyselina askorbová či tokoferol. Nepsychotropní CBD by se tedy mohlo využívat v případě oxidačních neurologických poruch jako je např. ischemie mozku [42].

V současné době klinický výzkum kanabinoidů cílí na okruh neurodegenerativních poruch CNS jako je roztroušená skleróza, Parkinsonova choroba, Alzheimerova choroba či Huntingtonova choroba. Perspektivním kanabinoidem se zdá být THCV (ligand receptoru CB1), neboť snižuje úmrtnost nervových buněk a zároveň bradykinezi (celkové zpomalení pohybů), což je typický jev doprovázející Parkinsonovu chorobu [24]. Další terapeutické využití by THCV mohl najít při léčbě epilepsie, neboť zmírňuje typické projevy ve formě záchvatů [43].

4.2 Dermatologické aplikace konopí

Přípravky obsahující kanabinoidy vykazují značný potenciál k léčbě různých kožních onemocnění včetně *acne vulgaris*, alergické kontaktní dermatitidy, atopického ekzému, psoriázy a svědění [44].

Např. ve studii [45] bylo zjištěno, že endokanabinoidy ovlivňují diferenciaci sebocytů prostřednictvím receptoru CB2. Bylo také zjištěno, že endokanabinoidy jsou přítomny v těchto sebocytech a slouží k regulaci syntézy lipidů a rovněž se podílí na indukci apoptózy prostřednictvím selektivní signalizace vázané na CB2. Bylo pozorováno, že v případě sebocytů s inhibovanými CB2 receptory došlo k významnému potlačení produkce bazálních lipidů.

Další studie [46] popisuje schopnost CBD inhibovat lipogenní působení různých sloučenin včetně kyseliny arachidonové a kombinace kyseliny linolové a testosteronu v kultivovaných

lidských sebocyttech. Navíc CBD také potlačilo proliferaci sebocytů prostřednictvím TRP kanálů a vykazovalo komplexní protizánětlivé účinky.

Ali a kol. [47] hodnotili účinky krému obsahujícího 3% extrakt z konopí na míru kožního mazu a erytému u 11 probandů s akné. Zjistili, že používáním tohoto krému 2krát denně na pravé tváři po dobu 12 týdnů došlo k významnému snížení hladiny kožního mazu ve srovnání s kontrolním krémem aplikovaným na levou tvář dobrovolníků. Rovněž bylo zaznamenáno značné snížení erytému.

Jiná studie [48] zmiňuje krém Mímyx obsahující palmitoylethanolamid, který má antipruritický účinek, což znamená, že zmírňuje nepříjemné pocity spojené se silným svěděním kůže. Mechanismus je založen na navázání PEA na receptory CB2 a inhibici aktivace žírných buněk. Krém byl naformulován tak, aby napodoboval přirozené složení *stratum corneum* s cílem obnovení kožní bariéry a snížení ztráty transepidermální vody (TEWL – Transepidermal Water Loss).

Současná literatura [44] poukazuje na řadu potenciálních aplikací kanabinoidů při léčbě různých kožních poruch. Prozatím však většina dostupných údajů je preklinických, což znamená, že testování probíhalo na zvířatech či buněčných kulturách. Nicméně již byly vyžádány důkladné a rozsáhlé kontrolované studie, na základě jejichž výsledků bude posouzeno, zda lze kanabinoidy považovat za bezpečnou a účinnou léčbu těchto dermatologických stavů.

4.3 Kosmetické aplikace konopí

4.3.1 Konopný olej

V kosmetických přípravcích se využívá za studena lisovaný konopný olej ze semen rostliny. Konopný olej je vyhledávaný díky blahodárným účinkům na pokožku celého těla a vlasy. Obsahuje významné množství nenasycených mastných kyselin, fytosterolů, minerálů a chlorofylu, prostřednictvím kterého je zároveň zeleně zbarvený. Díky své poměrně dobré vstřebatelnosti do pokožky, kvůli které nezanechává mastný omak jako jiné oleje, je uživatelsky oblíbený. Zároveň obnovuje přirozený kožní film, který zamezuje vysoušení pokožky a potlačuje časnou tvorbu vrásek, a to především pro jeho obsah antioxidantů. Ty jsou schopny zachytit volné kyslíkové radikály, které mají negativní vliv na stárnutí pokožky. Mezi další kladné vlastnosti konopného oleje patří hypoalergenita a snadná mísitelnost s jinými oleji používanými v kosmetice. Vzhledem k obsahu kyseliny

γ -linolenové má pozitivní vliv na kožní onemocnění, především na ekzémy, psoriázu, akné, seboreu či lupy [49], [50], [51].

Druhou variantou, se kterou se lze setkat u složení kosmetických přípravků je esenciální konopný olej. Samozřejmě může být použit přímo v parfémeh jako vonný komponent, ale častěji bývá využíván pro stabilizaci jiných aromatických složek. Je možné jej používat při aromaterapii pro jeho relaxační účinky. Samozřejmostí jsou antibakteriální a antiplísňové účinky, které jsou typickými znaky esenciálních olejů obecně [52].

Jak jsem naznačila výše, konopný olej je bohatý na esenciální mastné kyseliny, což znamená, že si je naše tělo neumí samo syntetizovat a jsou nezbytné pro správné fungování organismu. Těmito MK jsou kyselina linolová a linolenová. Konopný olej obsahuje až 70 % kyseliny linolové (omega 6), 15–25 % kyseliny α -linolenové (omega 3) a 1–4 % kyseliny γ -linolenové (omega 6). Poměr kyseliny linolové a α -linolenové je zhruba roven hodnotě 3:1, což se velmi blíží optimálnímu výživovému poměr ω -6 a ω -3 mastných kyselin, který je dle odborníků v rozmezí od 4:1 do 6:1. Pro porovnání množství esenciálních MK u různých rostlinných olejů je níže uvedena Tabulka 2. Dále ve složení nalezneme celou řadu vitaminů (A, B₁, B₂, B₆, C a E), fytosteroly, chlorofyl, lecitin a tokoferoly, které jsou velmi silnými antioxidanty [53], [54].

Tabulka 2 Obsah důležitých nenasycených mastných kyselin vybraných rostlinných olejů – upraveno podle [6, s. 195]

Olej	kys. linolová (ω -6) [%]	kys. α -linolenová (ω -3) [%]	kys. γ -linolenová (ω -6) [%]
konopný	50–70	15–25	1–4
lněný	17–31	44–54	–
olivový	4–15	1	–
řepkový	24–28	9–11	–
slunečnicový	50–64	stopové množství	–
sójový	49–55	4–12	–
pupalkový	55–65	–	6–14
brutnákový	25–40	<1	21–25

Nedostatek esenciálních ω -6 mastných kyselin může u člověka i zvířat vést k neurodermatitidám – zánětlivým kožním onemocněním. U postižených jedinců nejspíše dochází v důsledku nižší aktivity enzymu delta-6-desaturázy k nedostatečné transformaci kyseliny linolové na kyselinu γ -linolenovou, z čehož plyne, že neurodermatitidy mohou odrážet vrozenou vadu metabolismu tuků [6, s. 197]. Bylo provedeno již mnoho klinických studií [55], [56], [57], [58], ve kterých perorálním užíváním kyseliny γ -linolenové došlo k významnému zlepšení projevů neurodermatitidy (snížení drsnosti kůže a zvýšení hladiny katecholaminu) u testovaných jedinců. Nedávné studie zabývající se EKS v kůži [59], [60] poukazují na využití konopného oleje na pleť postiženou akné, neboť CBD přímo ovlivňuje produkci mazu v sebocytech.

4.3.2 Kosmetické přípravky obsahující konopný olej a kanabinoidy

Dnes na trhu existuje již celá řada firem vyrábějících kosmetiku založenou na konopném oleji. Je možné se s ním setkat ve formulacích u mycích emulzí, šamponů, pleťových krémů, mastí, sér, pleťových vod, tělových mlék apod. Níže uvádím příklady přípravků obsahujících konopný olej a kanabinoidy, přičemž u každého přípravku je uvedeno složení a doporučené použití. Zvolila jsem přípravky, které patří na našem trhu k těm novějším. Produkty jsem vybírala dle vlastního uvážení a nejedná se o spolupráci s těmito firmami.

CBD pleťový krém od firmy Havlíkova přírodní apotéka s.r.o.



Obrázek 12 CBD pleťový krém [61]

Složení: *Aqua* (demineralizovaná voda), *Cannabis Sativa Seed Oil* (konopný olej), *Glyceryl Stearate Citrate* (přírodní emulgátor), *Vitis Vinifera Seed Oil* (hroznový olej), *Coco-Caprylate/Caprates* (emolient), *Jjoba Esters* (hydratační látka z jojoby), *Persea Gratissima Oil* (avokádový olej), *Propanediol* (hydratační látka z kukuřice), *Glycerin* (zvláčňující látka

rostlinného původu), *Glyceryl Stearate*, *Cetyl Alcohol* (přírodní emulgátor), *Benzyl Alcohol* (konzervant pro přírodní a bio kosmetiku), *Squalane* (přírodní skvalan), *Camellina Sativa Seed Oil*, *Thymus Vulgaris Flower/Leaf/Stem Extract* (aktivní látka CLEAR Oléoactif®), *Cannabidiol* (aktivní látka z konopí – CBD), *Crithmum Maritimum Extract*, *Hydrogenated Vegetable Oil*, *Caprylic/Capric Triglyceride* (účinná látka Aroleat Samphira), *Glyceryl Caprylate*, *Xanthan Gum*, *Tocopherol* (vitamín E), *Helianthus Annuus Seed Oil* (slunečnicový olej), *Rosmarinus Officinalis Leaf Extract* (rozmarýnový extrakt), *Phytic Acid* (kyselina fytová).

Výrobce tento krém (viz Obrázek 12) doporučuje pro pokožku se zánětlivými projevy ve formě akné, ekzému či lupénky. Krém je dermatologicky testován pro citlivý typ pleti. Složení tohoto krému je čistě přírodního původu. Jedná se o emulzi O/V. Konopný olej je ve složení na druhém místě, z čehož vyplývá, že ze všech použitých olejů je ve formulaci zastoupen nejvíce. Výrobce dále uvádí obsah CBD a to 500 mg/100 g přípravku. Krém je certifikován jako CPK® bio [61]. Jde o český certifikát pro přírodní kosmetiku, který zakazuje použití syntetických a škodlivých látek, vyžaduje šetrný přístup k přírodě a určuje obsah bio surovin pocházejících z ekologického zemědělství na hranici minimálně 20 % [62].

Pleťový olej s CBD od firmy Cannor Natural Health Care s.r.o.



Obrázek 13 Pleťový olej s CBD [63]

Složení: *Cannabis Sativa Seed Oil* (konopný olej), *Argania Spinosa Kernel Oil* (arganový olej), *Simmondsia Chinensis Seed Oil* (jojobový olej), *Vitis Vinifera Seed Oil* (hroznový olej), *Prunus Armeniaca Kernel Oil* (meruňkový olej), *Punica Granatum Seed Oil* (olej z granátového jablka), *Prunus Amygdalus Dulcis Oil* (mandlový olej), *Olus Oil* (směs rostlinných olejů), *Cannabidiol* (aktivní látka z konopí – CBD), *Tocopherol* (vitamin E), *Santalum Album Wood Oil* (esenciální olej – santalové dřevo), *Cananga Odorata Flower*

Oil (esenciální olej – ylang ylang), *Eugenia Caryophyllus Flower Oil* (esenciální olej – hřebíček), *Rosa Damascena Flower Extract* (esenciální olej – růže damašská), *Benzyl Benzoate*, *Benzyl Salicylate*, *Eugenol*, *Farnesol*, *Linalool* (pochází z esenciálních olejů).

Pleťový olej zobrazený na Obrázku 13 je doporučen na velmi suchou, citlivou a stárnoucí pokožku. Veškerých sedm olejů je za studena lisovaných. Výrobce deklaruje vysoké množství ω -6 mastných kyselin, vitaminů A, B, C, E, minerálů a antioxidantů [63]. Dle použitých olejů ve formulaci si troufám tvrdit, že se tento přípravek hodí i pro pleť postiženou akné, neboť tyto oleje vykazují nízký stupeň komedogenity.

Konopný vlasový šampon s CBD od firmy CARUN PHARMACY s.r.o.



Obrázek 14 Konopný šampon s CBD [64]

Složení: *Aqua* (demineralizovaná voda), *Sodium Cocoamphoacetate* (tenzid z kokosového oleje), *Lauryl Glucoside* (šetrný tenzid), *Glycerin* (zvláčňující látka rostlinného původu), *Coco-Glucoside* (šetrný tenzid z kokosového oleje), *Glyceryl Oleate* (emulgátor), *Sodium Cocoyl Hydrolyzed Wheat Protein* (velmi jemný tenzid – slouží jako vlasový kondicionér), *Cannabidiol* (aktivní látka z konopí – CBD), *Cannabis Sativa Seed oil* (konopný olej), *Sesamum Indicum Seed Oil* (sezamový olej), *Rosmarinus Officinalis Leaf Oil* (rozmarýnový olej), *Lavandula Hybrida Oil* (levandulový olej), *Citric Acid* (kyselina citronová), *Phenoxyethanol* (konzervační látka), *Ethylhexylglycerin* (posiluje účinek konzervantů), *Linalool* (pochází z esenciálních olejů).

Šampon (viz Obrázek 14) je dle výrobce vhodný pro všechny typy vlasů a pro každodenní použití. Díky šetrnému složení je však zejména vhodný pro suchou, citlivou a problematickou pokožku hlavy [64]. Po hlavních složkách tvořících formulaci šamponu je ve složení jak CBD, tak i konopný olej, dle mého názoru tedy nejde pouze o reklamní tah od výrobce a přítomnost těchto dvou složek je vzhledem k typu přípravku adekvátní.

5 SOUČASNÁ LEGISLATIVA

Na úvod kapitoly věnované aktuální legislativě v oblasti konopí, bude vysvětlen rozdíl mezi technickým a lékařským konopím.

První zmiňovaný typ bývá mnohdy označován jako tzv. CBD konopí či konopí bez THC, a právě tento druh se čím dál častěji využívá v kosmetickém průmyslu a lékařství pro své terapeutické účinky popisované v předchozí kapitole. Díky nízké koncentraci THC, která je státem regulovaná do hranice 0,3 %, postrádá psychoaktivní účinky, a i z tohoto důvodu je dnes v mnohých zemích tento druh legalizován. Pěstování technického konopí a odpovídající legislativní předpisy jsou podrobněji rozebrány již v podkapitole 1.3. Druhým typem je lékařské či léčebné konopí, z jehož názvu vyplývá i jeho využití, přičemž může být předepsáno pouze pověřenými lékaři. U tohoto druhu jsou obsaženy veškeré látky, které se přirozeně v rostlině nachází, a to včetně THC [65].

Největší zlom v historii ČR v souvislosti s lékařským konopím přišel v roce 2013, neboť 1. 4. toho roku vešel v platnost zákon č. 50/2013 Sb., o legalizaci užívání léčebného konopí pro léčbu a výzkum a následně Ministerstvo zdravotnictví ČR (MZ ČR) zřídilo speciální agenturu spadající pod SÚKL věnující se tomuto tématu. V roce 2015 začala platit nová vyhláška MZ ČR č. 236/2015 Sb., ve které je ustanoveno zvýšení předepisovaného množství až na 180 g na měsíc a odstraněno omezení obsahu kanabinoidů na předepsání jakéhokoliv poměru THC a CBD. Navíc je pěstování lékařského konopí podmíněno vystavením licence od další instituce, a sice od Státní agentury pro konopí pro léčebné použití, zkráceně SAKL. K dnešnímu dni může pověřený lékař, který je uveden na webových stránkách SAKL předepsat konopí k léčebným účelům v případě svalového napětí, chronické bolesti související např. s onkologickým onemocněním, zvracení, nechutenství nebo v případě obličejových či kožních defektů [66, s. 22–26].

Obecně lze konstatovat, že CBD může být použito jako ingredience do kosmetických přípravků. Syntetické CBD není v současné době regulováno a pro daný výrobek musí platit pouze definice kosmetického přípravku a obecné požadavky na kosmetiku dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 Sb., o kosmetických přípravcích [67]. Samozřejmostí je zpráva o bezpečnosti, kde musí být zdokumentována bezpečnost jednotlivých složek. Kromě toho jsou zakázány lékařské či terapeutické indikace. Avšak CBD přírodního původu je v kosmetice legální pouze tehdy, pokud je získané ze semen a listů rostliny a zároveň je splněno kritérium obsahu THC pod 1 %.

6 CÍLE PRÁCE

Cílem teoretické části diplomové práce bylo vypracování literární rešerše se zaměřením na charakterizaci konopí, a to především na látky obsažené v této rostlině, tedy kanabinoidy. Taktéž byla věnována samostatná kapitola sloužící k pochopení funkce endokanabinoidního systému. Důraz byl kladen na potenciál kanabinoidů ve farmaceutické, dermatologické a kosmetické oblasti. Závěrem bylo věnováno několik slov současné situaci týkající se regulace kanabinoidů.

A právě z důvodu rostoucí nabídky kosmetických výrobků obsahujících kanabinoidy se v praktické části této diplomové práce budu zabývat ověřováním vlivu perorálně podávaného přípravku Cannasan® Imuno a topické aplikace konopné masti na pokožku dobrovolnic v periorbitální oblasti obličeje. Bude sledován účinek na biofyzikální faktory kůže skupiny dobrovolnic jako je množství vrásek, deskvamace, hydratace, TEWL, kyselost kožního pláště, textura pleti a s tím související parametry drsnosti a anizotropie.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 MATERIÁLY A METODIKA

7.1 Testované přípravky

- Potravinový doplněk Cannasan® Imuno (Cannasan Pro s.r.o., Česká republika)

Potravinový doplněk byl pro testování vyroben speciálně ve formě želatinových kapslí a poskytnut českou firmou Cannasan Pro s.r.o. Vyrábí se za studena, bez pasterizace, zahřívání a bez použití konzervantů, barviv či sladidel. Přípravek je vyrobený z certifikovaných odrůd konopí setého s obsahem THC nižším než 0,2 %. Přípravek je specifický svým obsahem širšího spektra kanabinoidů (např. CBD, CBN, CBG). Dle laboratorního rozboru provedeného na VŠCHT byl obsah CBDA v přípravku stanoven na 35,288 µg/ml a CBD na 2930 µg/ml. Konopí i zbylé použité byliny byly vypěstovány v ČR.

Složení: *Cannabis Sativa* (konopí seté), *Vitis Vinifera Seed Oil* (olej z hroznových jader), *Brassica Napus Seed Oil* (olej z řepky olejky), *Ribes Nigrum* (rybíz černý), *Taraxacum Officinale* (smetanka lékařská), *Salvia Officinalis* (šalvěj lékařská), *Fagus Sylvatica* (buk lesní), *Helianthus Tuberosus* (slunečnice topinambur)

- Konopná mast (Cannasan Pro s.r.o., Česká republika)

Dále byla k testování vyrobena a poskytnuta konopná mast vhodná k používání na pokožku celého těla od shodné firmy Cannasan Pro s.r.o.

Složení: *Butyrospermum Parkii Butter* (bambucké máslo), *Vitis Vinifera Seed Oil* (olej z hroznových jader), *Prunus Amygdalus Dulcis Oil* (mandlový olej), *Papaver Somniferum Seed Oil* (makový olej), *Helianthus Annuus Seed Oil* (slunečnicový olej), *Cannabis Sativa Leaf/Stem Extract* (extrakt z konopí setého), *Rosmarinus Officinalis Leaf Extract* (rozmarýnový extrakt), *Melaleuca Alternifolia Leaf Oil* (čajovníkový olej), *Limonene* (pochází z esenciálních olejů)

7.2 Použité pomůcky a chemikálie

- běžné laboratorní sklo, buničina, nůžky, pinzeta
- Jarischův roztok
- demineralizovaná voda
- dvousložkový silikon pro přípravu replik (Courage & Khazaka, Německo)

- materiál pro přípravu replik: oboustranně lepící papírové formy, transparentní krycí fólie, papírové rámečky sloužící k uchycení repliky, plastové nádoby a tyčinky sloužící k míchání a nanášení silikonu

7.3 Zkušební zařízení

- Visioskop[®] PC 35 (Courage & Khazaka, Německo)
- MPA 10 platforma (Multi Probe Adapter) s korneometrickou sondou, tewametrem a pH metrem (Courage & Khazaka, Německo)
- Skin Visiometer[®] SV 700 USB (Courage & Khazaka, Německo)
- vakuové čerpadlo na míchání silikonových komponentů s ručním podtlakovým mixérem a pedálem (Courage & Khazaka, Německo)

7.3.1 Visioskop[®] PC 35

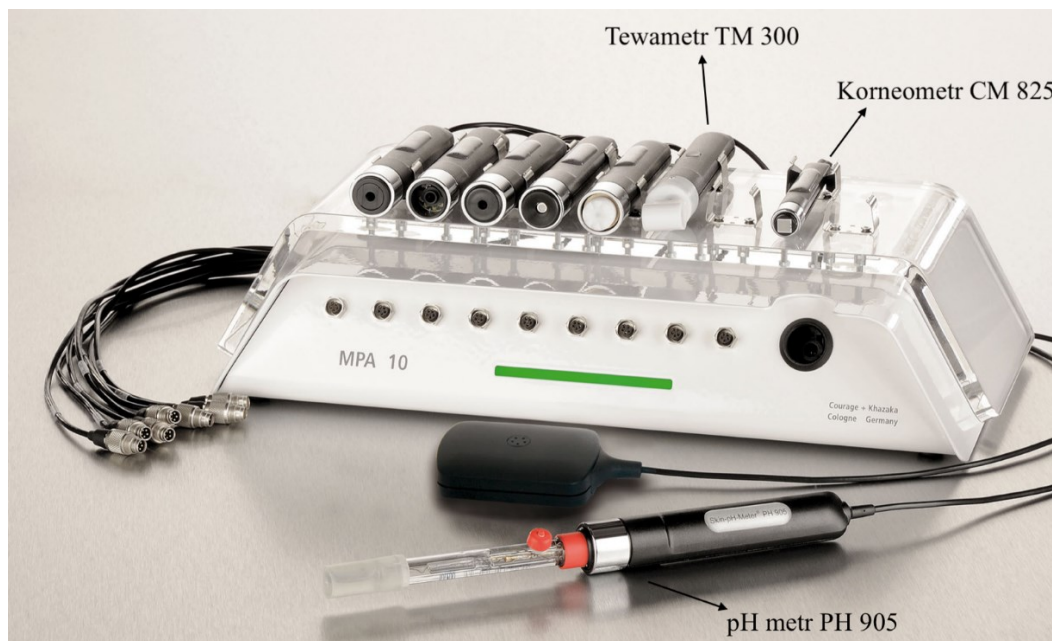
Visioskop (viz Obrázek 68) je digitální zobrazovací kamera, která slouží k pořizování snímků pokožky s 30násobným zvětšením. Kamera obsahuje dvě polarizační světla – paralelní (k povrchovému hodnocení pokožky) a křížové (k hlubšímu pohledu do kůže) polarizované světlo. Visioskop je prostřednictvím USB konektoru připojen k počítači a pomocí příslušného softwaru lze pořízené snímky vyhodnocovat. Takto je možné velice jednoduše a rychle stanovit množství vrásek a deskvamaci pokožky [68].



Obrázek 15 Visioskop[®] PC 35 [68]

7.3.2 Stanice MPA 10 a sondy

Stanice MPA 10 (Multi Probe Adapter) zobrazena na Obrázku 16 slouží k připojení níže popsaných sond. Díky propojení stanice s počítačem pomocí USB konektoru jsou veškerá měřená data rovnou shromažďována příslušným softwarem, ze kterého jsou vyexportována a uložena ve vhodném formátu pro Microsoft Office Excel.



Obrázek 16 Stanice MPA 10 a příslušné sondy – upraveno podle [69]

Korneometr[®] CM 825

Korneometrická sonda slouží k měření hydratace pokožky. Princip korneometru spočívá v měření kapacitního odporu kondenzátoru, přičemž přístroj pracuje při frekvenci 40–75 Hz. Korneometr dokáže stanovit obsah vody z hloubky pokožky v rozmezí 60–100 μm [70]. Měření probíhá přiložením sondy na dané místo, přičemž stačí vyvinout velmi jemný tlak a naměřená hodnota se ihned promítne v příslušném softwaru instalovaném v počítači. Je třeba dbát na důkladné očištění sondy pomocí buničiny mezi jednotlivými měřeními, aby nedocházelo ke zkreslení dat v důsledku různých pleťových produktů či přirozeně se vyskytujícímu lipidovému filmu na pokožce. K vyhodnocení slouží stupnice, která rozlišuje pokožku dle míry hydratace na extrémně suchou (< 30 c. j.), suchou (30–45 c. j.) a normální (> 45 c. j.) [71].

Tewametr[®] TM 300

Tewametr slouží k měření hodnoty TEWL. Při studii byl použit tewametr s otevřenou komorou, ve které jsou rozmístěny senzory měřící gradient odpařování vody z povrchu kůže. Sonda se přikládá kolmo na testované místo [72]. Po stisknutí tlačítka na sondě je ihned zahájeno měření a naměřené hodnoty se zobrazují na počítači. Měření je ukončeno opětovným stiskem tlačítka na sondě a následně je tewametr očištěn pomocí buničiny. Naměřené hodnoty se srovnávají se stupnicí, která kategorizuje stav pokožky na velmi dobrý

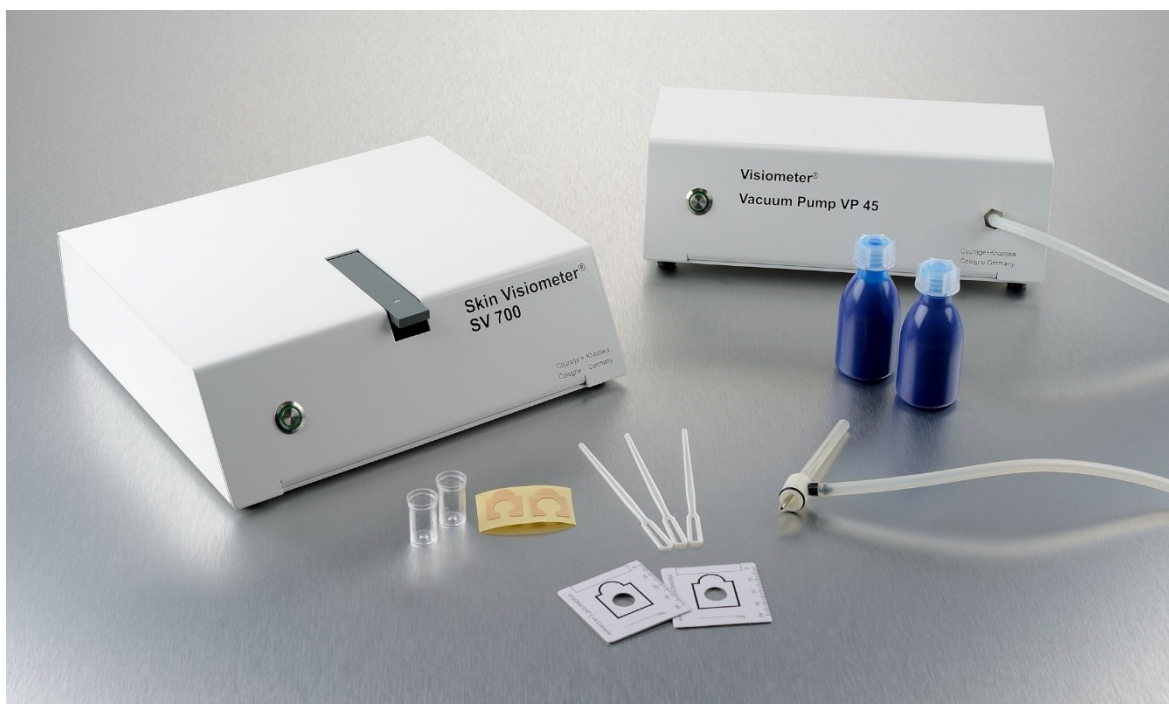
(0–10 g/m²/h), dobrý (10–15 g/m²/h), normální (15–25 g/m²/h), napjatý (25–30 g/m²/h) a kritický (> 30 g/m²/h) [73].

pH metr[®] PH 905

Sonda pH metru se skládá z plastické rukojeti a skleněné elektrody, která pokud neprobíhá měření, musí být uchovávána v roztoku KCl, a naopak po dobu měření je ponořena do kádinky s demineralizovanou vodou. Před každým měřením je skleněná elektroda důkladně opláchnuta demineralizovanou vodou a následně lehkým přiložením buničiny osušena. Zjednodušeně by se dalo říci, že hodnota pH je produktem hydrofilních sloučenin ze *stratum corneum*, potu a mazu [74]. Přírozené pH pokožky by se mělo vyskytovat v mírně kyselé oblasti, a to v rozmezí hodnot 4,5–5,5. Pokud je pH pokožky <4,5 je vyhodnoceno jakožto kyselé a naopak pokud je >5,5 pokládá se pokožka dle stupnice pH metru za zásaditou [75].

7.3.3 Skin Visiometr[®] SV 700

Tento přístroj (viz Obrázek 17) vyhodnocuje mikrorelief povrchu pokožky za pomoci světla, které proniká tenkou modrou replikou, která je vyrobena ze speciálního dvousložkového silikonu. Replika je vložena mezi zdroj světla a kameru. Na tloušťce vytvořené repliky je odvislá absorpce světla. Díky výsledným 2D a 3D obrazům pokožky se na základě hloubky vrásek vyhodnotí parametry povrchu kůže.



Obrázek 17 Skin Visiometer SV 700 včetně potřebného příslušenství [76]

Množství absorbovaného světla určuje Lambert-Beerův zákon (1):

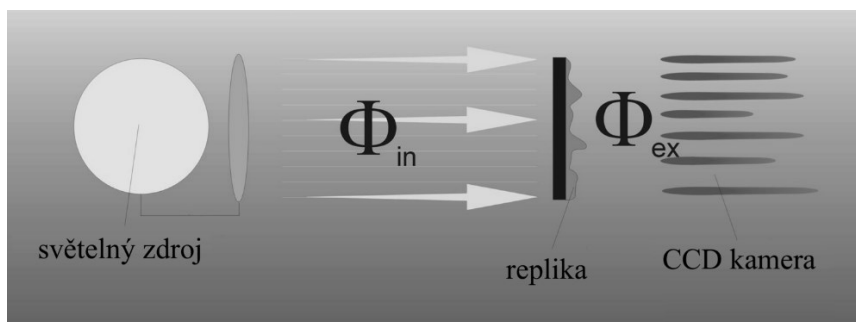
$$\Phi_{\text{ex}} = \Phi_{\text{in}} \cdot e^{-kd} \quad (1)$$

kde:

k – absorpční konstanta,

d – délka optické dráhy.

Na Obrázku 18 je znázorněn princip měření. Replikou prochází světlo, které snímá CCD kamera ve stupních šedi. Takto získaný obraz je zobrazen v souřadnicích, kdy souřadnice X a Y zobrazují výšku a souřadnice Z hloubku. Stanovení vrásek a mikroreliéfu pokožky je při vývoji produktů oddalujících stárnutí pokožky nezbytné a díky této metodě je možné stanovit hloubku vrásek v rozmezí 20–300 μm [76].



Obrázek 18 Princip přístroje Skin Visiometr[®] SV 700 – upraveno podle [76]

7.4 Soubor dobrovolnic

Studie se účastnilo 24 dobrovolnic, které byly rozděleny do 3 skupin. První skupina užívala pouze kapsle a čítala 8 žen, ve druhé skupině bylo 6 žen, které používaly mast a třetí skupinou bylo 10 žen, které užívaly oba přípravky současně viz Tabulka 3. Početní rozdělení dobrovolnic ve skupinách je nerovnoměrné, neboť některé z účastnic v průběhu studie odstoupily. Studie se účastnily dobrovolnice středního věku, aby vliv testovaných přípravků na vrásky byl měřitelný. Samotný výběr a následný proces měření se řídil mezinárodní etickou směrnicí pro biomedicínský výzkum zahrnující lidské účastníky [77].

Tabulka 3 Charakteristika dobrovolnic

Skupina dobrovolnic	Počet	Věk ($\bar{x} \pm s$)
doplněk stravy	8	44 \pm 2
mast	6	49 \pm 3
mast + doplněk stravy	10	47 \pm 2

7.5 Organizace měření

Měření probíhalo v laboratoři Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Laboratoř byla vždy klimatizována na stejnou teplotu 22 ± 2 °C. Relativní vlhkost v laboratoři byla $36,2 \pm 0,5$ %. Měření proběhla celkem 3krát, první měření se uskutečnilo v září, druhé v říjnu a poslední měření bylo vykonáno v prosinci. Dobrovolnice byly dopředu seznámeny s průběhem měření a podepsáním prohlášení účastníka studie (Příloha P I) a informovaného souhlasu (Příloha P II) stvrdily svou účast. Před každým měřením byly dobrovolnice ponechány 20 minut kvůli aklimatizaci v prostředí laboratoře. Před prvním měření dobrovolnice vyplnily dotazník (Příloha P III), který sloužil především ke zjištění jejich zdravotního stavu a získání informace, zda nepodstoupily v uplynulých měsících testování jiných kosmetických přípravků. Součástí dotazníku je část věnována ústnímu mikrobiomu, která není předmětem této studie, a tudíž zde není zpracována. Zároveň byly dobrovolnicím přiděleny příslušné přípravky. Dále byly instruovány, jakým způsobem přípravky užívat či aplikovat, a to včetně upozornění, aby v době studie neaplikovaly na testovanou oblast jiné kosmetické přípravky. Přípravky byly dodány v množství odpovídajícím užívání po dobu 3 měsíců. Konopná mast byla aplikována na periorbitální oblast 1krát denně v množství 0,1 g (tenká vrstva) a potravinový doplněk byl užíván 2krát denně (1 kapsle ráno, 1 kapsle večer).

Testovaná periorbitální oblast (oblast spánků) byla vždy před započítím měření důkladně očištěna Jarischovou vodou, pokud měla dobrovolnice na pleti make-up byla navíc použita i odličovací micelární voda.

Prvním krokem měření bylo vytvoření snímků pokožky za pomoci visioskopu PC 35 a využití příslušného softwaru CSI – Complete Skin Investigation. Kamera byla jemně přiložena na testovanou oblast, a jakmile byl obraz zaostřen, byl vyfocen detailní snímek pokožky. Takto proběhlo focení na pravé i levé straně periorbitální oblasti. Software

následně vypočítal zastoupení vrásek v % a takéž stupeň deskvamace. Naměřená data včetně fotografií byla uložena.

Druhým krokem měření bylo stanovení hydratace testované oblasti. Hydratace se měřila za pomoci korneometru CM 825. Po očištění sondy buničinou byla sonda jemným tlakem přiložena na levý spánek a každým přitlakem sondy bylo naměřeno pět hodnot. Stejným způsobem byly získány hodnoty i na pravém spánku. Opět byla data po každém měření uložena.

Třetím krokem bylo měření TEWL za využití sondy tewametr TM 300. Sonda byla jemně očištěna buničinou a přiložena na testovanou oblast nejprve na levé a následně na pravé straně obličeje. V případě měření hodnoty TEWL bylo pro každou stranu naměřeno 15 hodnot, které byly uloženy.

Předposledním krokem bylo stanovení hodnoty pH za pomoci příslušné sondy pH metru PH 905. Sonda byla před každým měření důkladně opláchnuta demineralizovanou vodou, velice jemně osušena buničinou a přiložena k testované oblasti. Na každé straně byla naměřena jedna hodnota pH. Po ukončení měření byly hodnoty uloženy.

Posledním krokem bylo snímání kožního mikroreliefu prostřednictvím silikonových replik. V první řadě bylo nutné nalepit dobrovolnici oboustranně lepící papírovou formu vymezující plochu v periorbitální oblasti, na kterou byl nanášen silikon. Tato forma byla umístěna na obě testované strany. Poté byla připravena průhledná krycí fólie. Následně byl umíchán dvousložkový modrý silikon, a to smícháním báze a katalyzátoru v kelímku v poměru cca 1,5:1. Tyto fáze se dokonale spojily pomocí vakuového čerpadla (cca 20 s), které zároveň zamezovalo tvorbě vzduchových bublin, jež by mohly repliku znehodnotit a zkreslovat výsledky měření. S takto připraveným silikonem bylo zapotřebí pracovat velmi rychle, proto byl pomocí plastové tyčinky ihned nanesen na předpřipravenou transparentní krycí fólii a okamžitě přilepen dobrovolnici na papírovou formu. V mezidobě, kdy silikon tuhnul (cca 5 minut), byla nachystána papírová šablona (označena přiděleným číslem dobrovolnice a příslušnou testovanou stranou), na kterou se následně zhotovená replika nalepila. Na závěr byla provedena kalibrace přístroje Skin Visiometr SV 700 a poté byla hodnocená šablona s replikou vložena do přístroje tak, aby strana repliky, na níž byla krycí fólie, směřovala ke světelnému zdroji. V příslušném softwaru byl zhotoven snímek a spolu s daty uložen.

7.6 Statistické zpracování naměřených dat

Všechna naměřená data byla vyhodnocena v programu Microsoft Office Excel. Ke statistickému zpracování byl využit aritmetický průměr (2) a směrodatná odchylka (3).

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad (2)$$

Kde:

\bar{x} – aritmetický průměr,

N – počet měření,

x_i – hodnota měření.

$$s = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

Kde:

s – směrodatná odchylka,

N – počet měření,

\bar{x} – aritmetický průměr,

x_i – hodnota měření.

Jak již bylo zmíněno výše, testována byla periorbitální oblast. Hodnoty byly měřeny vždy na levé i pravé straně této oblasti a vyhodnocení dat pro jednotlivé skupiny dobrovolnic proběhlo následovně:

- množství vrásek a deskvamace – hodnoty byly vyhodnoceny pomocí aritmetického průměru (2),
- korneometrie – vždy bylo naměřeno 5 hodnot, přičemž odlehlé hodnoty byly vyloučeny Dixonovým testem a následně byl vypočítán aritmetický průměr (2) a směrodatná odchylka (3),
- TEWL – vždy bylo naměřeno 15 hodnot, přičemž aritmetický průměr (2) a směrodatná odchylka (3) byly vypočítány z 10 hodnot, neboť prvních

5 naměřených hodnot bylo zanedbáno z důvodu ustálení teplot mezi měřicí sondou a pokožkou,

- pH – hodnoty byly vyhodnoceny pomocí aritmetického průměru (2) a směrodatné odchylky (3),
- parametry drsnosti R (R1–R5) – pro každou hodnotu byl spočítán aritmetický průměr (2) a směrodatná odchylka (3),
- anizotropní parametry – pro hodnoty anizotropního indexu byly spočítány aritmetické průměry (2) a směrodatné odchylky (3).

U parametrů hydratace, TEWL a pH byla pomocí doplňku „Analýza dat“ v Microsoft Office Excel posouzena hodnota signifikance, tzn. zda došlo ke změnám těchto hodnot po 1 a 3 měsících užívání přípravků. Byl zvolen dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu. Testování bylo vždy provedeno na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Veškeré signifikantní výsledky parametrů hydratace a TEWL jsou v této práci označeny hvězdičkou (viz Obrázky 20–22).

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Vyhodnocení účinků testovaných přípravků pomocí visioskopu

Prvním krokem této studie bylo vyhodnocení stavu pokožky všech 24 dobrovolnic pomocí Visioskopu PC 35. Jedním ze sledovaných parametrů byla procentuální redukce množství vrásek a následně byla hodnocena deskvamace.

Jak lze vidět z Tabulky 4 k nejmenší redukci vrásek došlo ve skupině dobrovolnic testujících pouze potravinový doplněk. Na obou testovaných stranách (pravá i levá periorbitální oblast) byl pokles v množství vrásek za celé 3 měsíce užívání $-0,6\%$. Zajímavějších výsledků dosahovaly zbylé dvě skupiny dobrovolnic. U dobrovolnic používajících mast došlo k redukci vrásek o $-2,9\%$ na pravém spánku a o $-1,9\%$ na levém spánku. Třetí skupina s přidělenými oběma přípravky současně zaznamenala taktéž redukci množství vrásek. Pro pravou periorbitální oblast byl pokles roven $-1,7\%$ a pro levou stranu byla tato hodnota stanovena na $-1,5\%$. Z těchto výsledků je patrné, že větší vliv na reliéf pokožky vykazovala mast, která byla topicky aplikována přímo na testovanou oblast.

Tabulka 4 Průměrné hodnoty množství vrásek pro jednotlivé skupiny dobrovolnic

Množství vrásek [%]						
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast			Levá periorbitální oblast		
	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy
0 (baseline)	14,4	14,7	15,2	13,7	14,3	14,2
1 měsíc	14,4	12,9	13,9	13,2	13,3	12,9
3 měsíce	13,8	11,8	13,5	13,1	12,4	12,7

Na Obrázku 19 je prezentována vizuální změna reliéfu pokožky, a to pro pravou periorbitální oblast. Byly vybrány snímky tří dobrovolnic zastupujících každou skupinu, u nichž je vizuální změna po třech měsících užívání přípravků dobře pozorovatelná, avšak k vyhlazení pokožky došlo u všech testovaných dobrovolnic.



Obrázek 19 Změna reliéfu pokožky před a po 3 měsících ověřování účinnosti přípravků
Pro pořízení detailních snímků reliéfu pokožky je využití visioskopu ideální, avšak pro získání přesných, nezkreslených hodnot zmenšení vrásek je vhodnější připravit kožní repliky, jejichž parametry vyhodnocení jsou součástí podkapitoly 8.5.

V Tabulce 5 jsou zaznamenány průměrné hodnoty deskvamace (olupování kůže) napříč soubory dobrovolnic. Z výsledku je patrné, že hodnoty mírně kolísaly a nelze říct, že by s dobou užívání přípravků tato hodnota klesala. Na druhou stranu tyto poměrně stabilní výsledky byly očekávány, neboť testované přípravky neobsahují látky, které by měly keratolytické účinky, jako mají např. AHA či BHA kyseliny.

Například v *in vivo* studii [78], ve které byla studována deskvamační účinnost přípravků určených k topické aplikaci s obsahem kyseliny salicylové, byly zjištěny signifikantní výsledky pomocí stripovací pásky a následné kvantifikace odstraněné rohové vrstvy u přípravků s kyselinou v porovnání s placebo krémem.

Tabulka 5 Průměrné hodnoty deskvamace pro jednotlivé skupiny dobrovolnic

Deskvamace [1]						
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast			Levá periorbitální oblast		
	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy
0 (baseline)	31,3	31,4	29,7	30,6	28,9	29,6
1 měsíc	29,6	32,2	30,3	28,8	29,0	30,5
3 měsíce	30,2	30,1	29,7	30,6	28,3	29,9

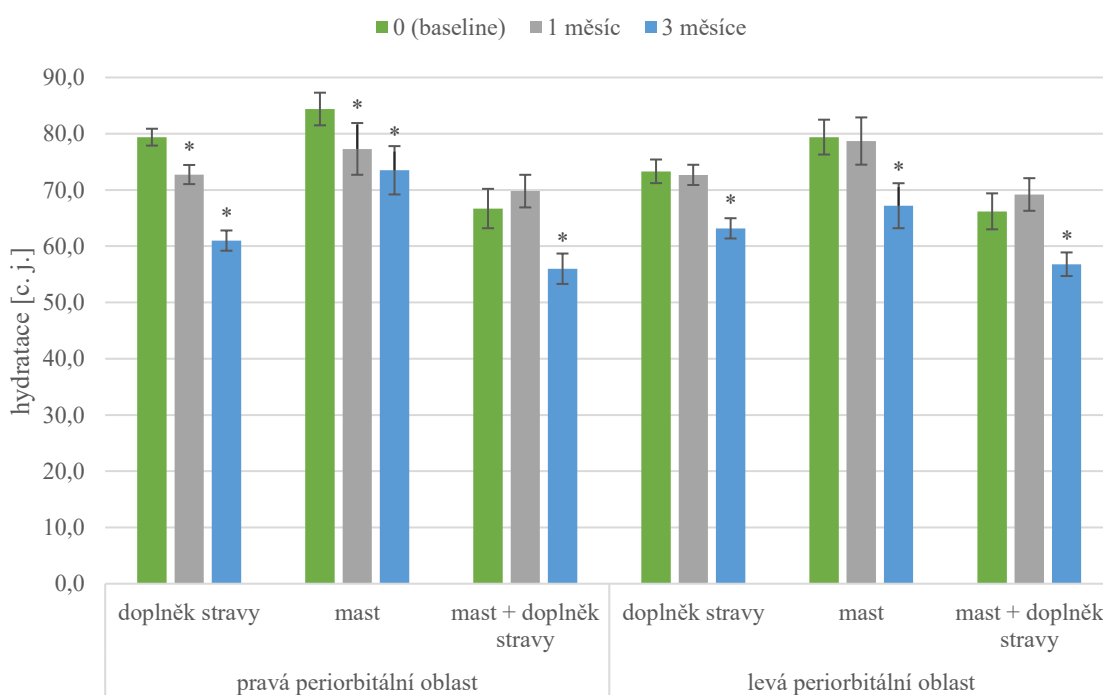
8.2 Vyhodnocení korneometrie

Dalším testovaným parametrem v této studii byla hydratace, která byla měřena pomocí korneometrické sondy.

Pro lepší přehlednost výsledných hodnot byl sestrojen sloupcový graf viz Obrázek 20, ve kterém jsou zaznamenány průměrné hodnoty hydratace pokožky včetně směrodatných odchylek pro jednotlivé skupiny dobrovolnic. Z výsledků lze dobře vidět, že napříč všemi skupinami dobrovolnic došlo na konci studie k signifikantnímu snížení hydratace pokožky ($p < 0,05$) v testované periorbitální oblasti (viz Tabulka 6) a nelze tedy konstatovat, že

testované přípravky mají pozitivní vliv na hydrataci. K největšímu poklesu hydratace a to o $-23,2\%$ na pravé a o $-13,8\%$ na levé straně došlo u skupiny užívající potravinový doplněk. Na druhou stranu byla u všech dobrovolnic pokožka velmi dobře hydratovaná v porovnání s tabelovanými hodnotami (viz 7.3.2) a to jak před započítím, tak i po ukončení testování. Navíc hydrataci ovlivňuje, kromě kosmetických přípravků, několik dalších faktorů zahrnujících pitný režim, stravovací návyky, ale také např. roční období [70]. Je zapotřebí vzít v úvahu, že poslední měření této studie probíhalo v prosinci a k poklesu hydratace mohlo přirozeně dojít i z tohoto důvodu. Navíc firma Cannasan Pro s.r.o. v případě potravinového doplňku deklaruje schopnost detoxikace organismu, což se může také odrážet na snížení míry hydratace.

V nedávné klinické *in vivo* studii z letošního roku (2021) [79], ve které testovali emulzi s obsahem extraktu z konopí, došlo naopak ke zvýšení hydratace o 18% u dobrovolníků aplikujících formulaci s CBD a také ke snížení erytému o $-24,3\%$ a TEWL o -16% v porovnání se skupinou, která obdržela k aplikaci placebo krém. Obě skupiny byly vyzvány, aby daný přípravek používaly 2krát denně po dobu 14 dní. Výsledky této klinické studie poukázaly na možnost využití konopného extraktu jako aktivní ingredience v pleťových a tělových přípravcích, a to prostřednictvím prokázaných protizánětlivých a hydratačních schopností.



Obrázek 20 Průměrné hodnoty hydratace pokožky v čase

Tabulka 6 Procentuální změna parametru hydratace v čase

Změna [%]						
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast			Levá periorbitální oblast		
	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy
1 měsíc	-8,4	-8,4	4,6	-0,9	-0,9	4,5
3 měsíce	-23,2	-12,9	-16,0	-13,8	-15,4	-14,2

8.3 Vyhodnocení tewametrie

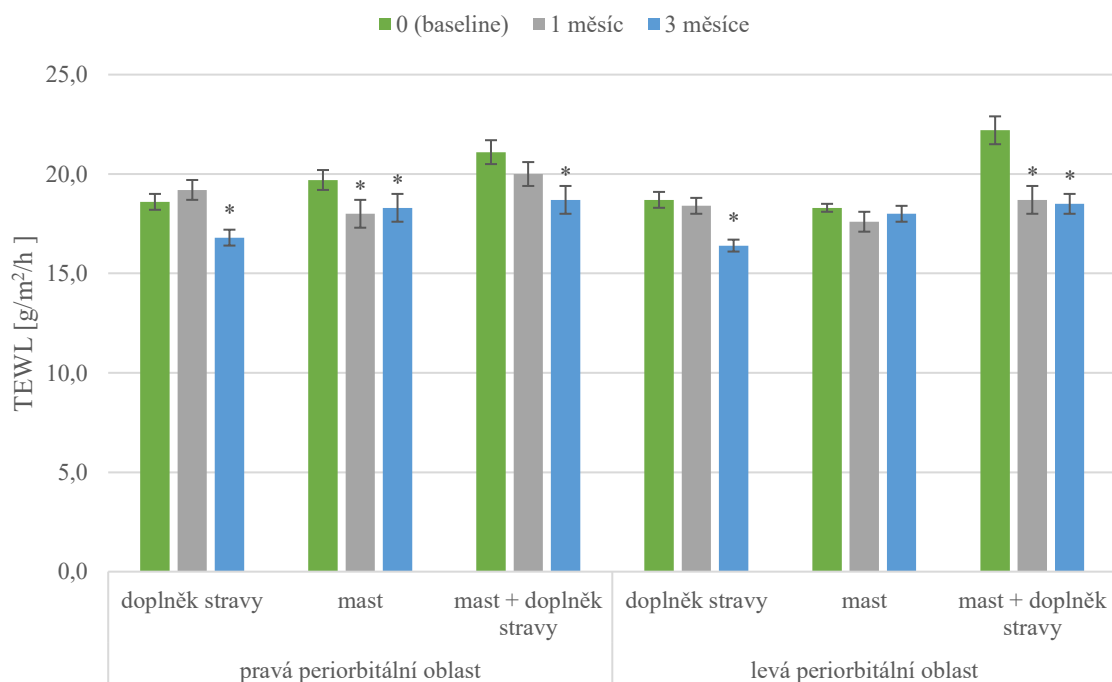
Dalším sledovaným parametrem v této studii byla TEWL, přičemž výsledné průměrné hodnoty včetně směrodatných odchylek pro jednotlivé skupiny dobrovolnic jsou prezentovány na Obrázku 21.

Zdravá pokožka představuje ochrannou bariéru zabraňující vypařování vody, a to právě díky lipidovému filmu přirozeně se vyskytujícímu na pokožce. Příčinou narušení této bariéry může být některé z kožních onemocnění nebo může být také způsobeno například nešetrným čištěním pleti [48]. Míra ztráty vody z *epidermis* je důležitým indikátorem stavu kožní bariéry. Z grafu je patrné, že průměr naměřených hodnot u pokožky všech skupin dobrovolnic se již před zahájením experimentu odpovídal stavu normální pokožky (viz kapitola 7.3.2). Nicméně jak vyplývá z výsledků (viz Tabulka 7), obě testované formulace vykazovaly na konci studie signifikantní ($p < 0,05$) vliv na tento parametr – trendem byl pokles monitorovaných hodnot. Avšak je také zjevné, že konopná mast vykazovala o něco menší vliv na pokles této hodnoty, než jak tomu bylo u dobrovolnic, které užívaly současně potravinový doplněk.

Ve studii [80] byl sledován podobný účinek na kožní bariéru dvaceti zdravých žen, ale způsobený formulací s kyselinou hyaluronovou, glycerinem a extraktem z pupečníku asijského, který může inhibovat aktivitu hyaluronidázy, a tím prodlužovat účinek kyseliny hyaluronové. Úbytek vody byl hodnocen na volárním povrchu předloktí. Hodnoty TEWL

byly v porovnání s kontrolní oblastí signifikantně nižší, a to až o 48 % již po 24 hodinách od aplikace daného přípravku obsahujícího tyto složky.

V jiné *in vivo* studii [81] byly testovány 3 typy formulací (lipozomální formulaci, emulzi V/O/V a mikroemulzní gel) určené k péči o pokožku a jejich vliv na TEWL. Studie probíhala 6 týdnů, přičemž hodnoty TEWL byly poprvé naměřeny týden před započítáním testování a následně byly změny sledovány během studie každý týden. K prokázání stabilních účinků na hodnotu TEWL bylo poslední měření provedeno za týden od poslední aplikace přípravků. Připravené formulace byly aplikovány vždy na volární stranu předloktí dobrovolníků. Bylo zjištěno, že v případě emulze V/O/V a lipozomů nedošlo k významnému zlepšení bariérové funkce pokožky, a naopak ošetření mikroemulzním gelem vedlo ke zvyšování hodnot TEWL, což naznačovalo narušení kožní bariéry. Patrně za to mohl vysoký obsah povrchově aktivních látek v kombinaci s isopropanolem, který byl použit jako rozpouštědlo. Na druhou stranu, naměřené hodnoty TEWL týden po poslední aplikaci poklesly téměř na úroveň kontrolních hodnot, což vypovídá o schopnosti kůže se rychle regenerovat.



Obrázek 21 Průměrné hodnoty TEWL v čase

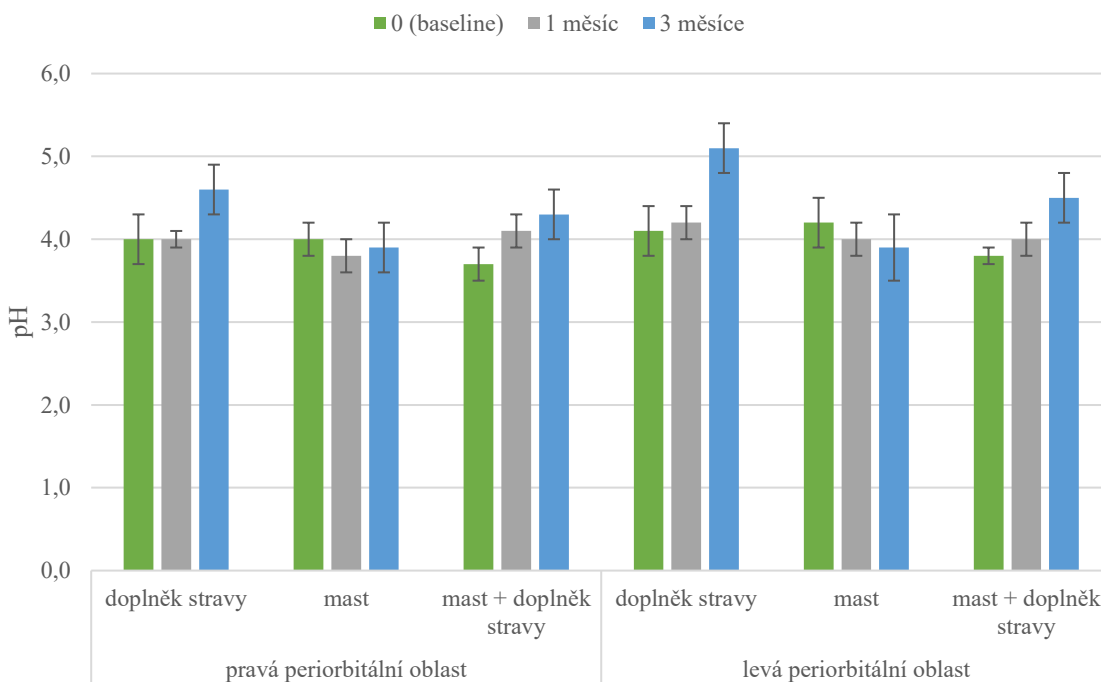
Tabulka 7 Procentuální změna parametru TEWL v čase

Změna [%]						
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast			Levá periorbitální oblast		
	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy
1 měsíc	3,2	-8,6	-5,2	-1,6	-3,8	-15,8
3 měsíce	-9,7	-7,1	-11,4	-12,3	-1,6	-16,7

8.4 Vyhodnocení hodnot pH

Hodnoty pH naměřené v testované periorbitální oblasti jsou pro jednotlivé skupiny dobrovolnic graficky znázorněny na Obrázku 22. Vstupní hodnoty pH byly u všech dobrovolnic v kyselé oblasti, avšak po 3 měsících u dvou skupin dobrovolnic, které užívaly potravinový doplněk, byl patrný posun hodnot pH do oblasti neutrální (viz Obrázek 22). Naopak u druhé skupiny, která testovala pouze mast, byly po ukončení studie hodnoty pH mírně kyselejší, než před jejím započítím (viz podkapitola 7.3.2). Výsledné hodnoty pH nebyly vyhodnoceny jako signifikantní ($p < 0,05$) k hodnotám naměřeným před započítím studie.

Lambers a kol. [82] testovali hodnotu pH na volární straně předloktí u 330 dobrovolníků a zjistili, že průměrná hodnota pH kůže je 4,7. Zároveň z jejich výsledků vyplývá, že kůže s hodnotou $pH < 5$ je v lepší kondici a více hydratovaná, než když je její $pH > 5$.



Obrázek 22 Průměrné hodnoty pH v čase

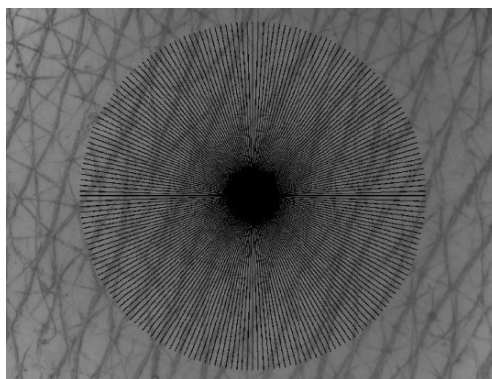
Tabulka 8 Procentuální změna parametru pH v čase

Změna [%]						
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast			Levá periorbitální oblast		
	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy	Doplněk stravy	Mast	Mast + doplněk stravy
1 měsíc	0,0	-5,0	10,8	2,4	-4,8	5,3
3 měsíce	15,0	-2,5	16,2	24,4	-7,1	18,4

8.5 Vyhodnocení kožních replik

K vyhodnocení účinku testovaných přípravků na vrásky v periorbitální oblasti dobrovolnic bylo využito snímání obrazu vytvořených replik, jeho zpracování a vygenerování parametrů drsnosti R1, R2, R3, R4 a R5 pomocí Skin Visiometru SV 700. Tyto parametry byly původně zavedeny pro potřeby materiálového inženýrství a jsou klasifikovány v příslušné směrnici DIN 4762-4768. Parametr R1 (v normě jako Rt) vymezuje vzdálenost mezi nejvyšším vrcholem a nejhlubší prohlubní na testované oblasti pokožky. Maximální parametr R2 (v normě jako Rm či Rmax) představuje maximální lokální drsnost z hodnot drsností různých segmentů. Dále průměrný parametr drsnosti R3 (v normě uveden jako Rz) počítá průměr drsnosti z pěti nejvyšších a zároveň z pěti nejnižších segmentů. Parametr R4 (v normě jako Rp) udává maximální výšku profilu a jeho hodnota se vztahuje k délce vrásky. Poslední parametr R5 (v normě pod názvem Ra) stanovuje průměrnou odchylku skutečného profilu od toho průměrného. Kvantitativní poměr mezi těmito parametry drsnosti by měl vždy být $R1 \geq R2 \geq R3 \geq R4 \geq R5$ [83, s. 22].

Výsledné parametry drsnosti závisí také na oblasti výpočtu, které jsou v nabídce tři – horizontální, vertikální a po kružnici. V této diplomové práci byly veškeré parametry drsnosti vyhodnoceny vždy v kruhové oblasti (viz Obrázek 23), poněvadž sám výrobce a také práce [84], ve které byla data pro srovnání vyhodnocena i při horizontálním proložení, ji doporučuje jakožto nejpřesnější, neboť kompenzuje vliv směru vrásek a zároveň omezuje nepřesnosti, které mohly nastat při samotném odběru či manipulaci se vzorky. I přes to je nutné dbát na pečlivou přípravu silikonových replik především bez vzduchových bublin, které mohou negativně ovlivňovat naměřené výsledky a samozřejmě je potřeba repliku dobrovolnici sundávat až po dokonalém vytvrzení.

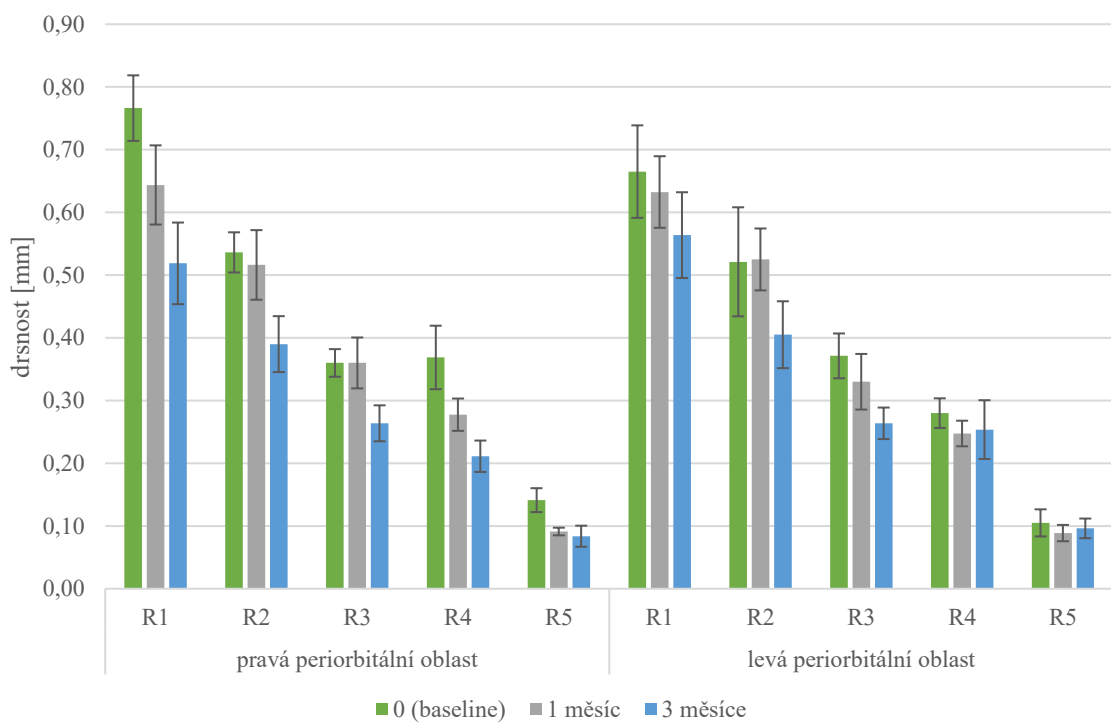


Obrázek 23 Kruhová oblast pro vyhodnocení parametrů drsnosti

8.5.1 Parametry drsnosti

Stejně jako u předchozích sledovaných charakteristik byly sestrojeny přehledné sloupcové grafy zobrazující pokles parametrů drsnosti v průběhu ověřování účinnosti studovaných formulací (viz Obrázky 24–26) a k tomu odpovídající Tabulky 9–11 zachycující změnu vyjádřenou v procentech. Z výsledků je taktéž patrné, že k průběžnému poklesu dochází dle předpokladu $R1 \geq R2 \geq R3 \geq R4 \geq R5$. Pokud srovnáme jednotlivé parametry u tří skupin dobrovolnic před a po ukončení studie, tak parametr R1 u skupiny užívající potravinový doplněk poklesl o –32,3 % na pravé straně a o –15,2 % na levé, u skupiny, která topicky aplikovala konopnou mast na periorbitální oblast, došlo ke snížení tohoto parametru R1 o –26,4 % na pravé a o –22,6 % na levé straně. Ve skupině užívající oba přípravky současně byl zaznamenán pokles parametru R1 o –16,6 % na pravé a o –11,2 % na levé straně. Parametr R2 klesl ve skupině užívající potravinový doplněk o –27,3 % (P) a –22,3 % (L), u skupiny používající mast došlo ke snížení o –30,1 % (P) a –27,9 % (L) a v případě třetí skupiny užívající oba přípravky hodnota klesla o –26,6 % (P) a –17,9 % (L). Průměrný parametr drsnosti R3 klesl o –26,7 % (P) a –29,0 % (L) u skupiny dobrovolnic konzumující potravinový doplněk, zatímco u druhé skupiny s mastí došlo k poklesu o –36,1 % (P) a –27,7 % (L) a u skupiny s oběma přípravky současně se hodnoty parametru R3 zlepšily o –24,3 % (P) a –16,5 % (L). Parametr R4, který je vztažen k délce vrásky se u skupiny dobrovolnic pouze s potravinovým doplňkem zlepšil o –42,7 % (P) a –9,4 % (L). K poklesu parametru R4 o –25,7 % (P) a –20,9 % (L) došlo u skupiny používající mast a pokles –6,3 % (P) a –9,7 % (L) byl zaznamenán u třetí skupiny s oběma přípravky. Parametr R5 poklesl o –40,7 % (P) a –8,3 % (L) u první skupiny, dále o –41,4 % (P) a –20,3 % (L) u skupiny užívající mast a v neposlední řadě o –13,3 % (P) a –17,3 % (L) u poslední skupiny, která testovala oba přípravky současně. Výsledky tedy nepopíratelně ukazují na pozitivní vliv tříměsíční kúry na vrásky v periorbitální oblasti, a to u obou testovaných přípravků firmy Cannasan Pro s.r.o.

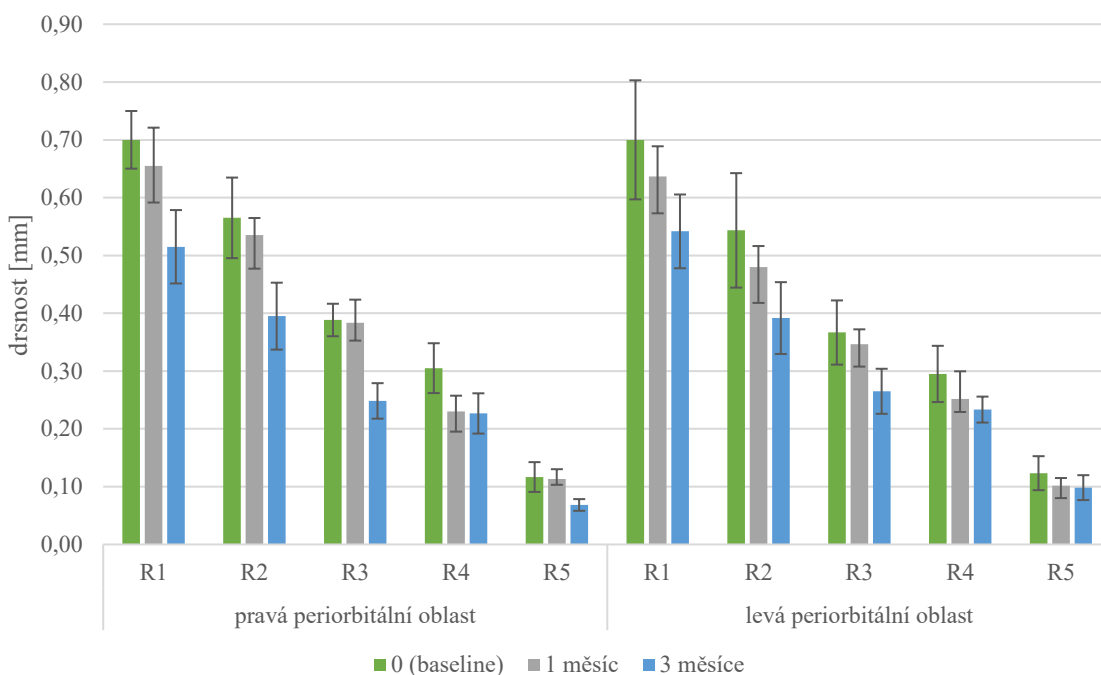
V *in vivo* studii z roku 2009 [85] testovali vliv doplňku stravy (koenzym Q10, beta karoten, extrakt z grepových jader a zeleného čaje, zinek a selen) na parametry drsnosti. Studie se zúčastnilo 60 žen v rozmezí věku 35–60 let, které užívaly daný přípravek po dobu 12 týdnů. Na konci studie byl prokázán signifikantní pozitivní výsledek, kdy došlo ke zlepšení stavu vrásek o 21,2 %. Jiná studie [86] zase testovala tělový krém, který obsahoval 10 olejů z thajských rostlin. Opět zde bylo prokázáno signifikantní snížení zde testovaného parametru R3 a R5 za využití stejné metodiky jaká byla použita v této diplomové práci. Oleje jsou dobrým zdrojem antioxidantů a vykazují dobré účinky jak v prevenci, tak i redukci vrásek.



Obrázek 24 Parametry drsnosti pro skupinu dobrovolnic užívajících potravinový doplněk

Tabulka 9 Procentuální změna parametrů drsnosti v čase u skupiny dobrovolnic užívajících potravinový doplněk

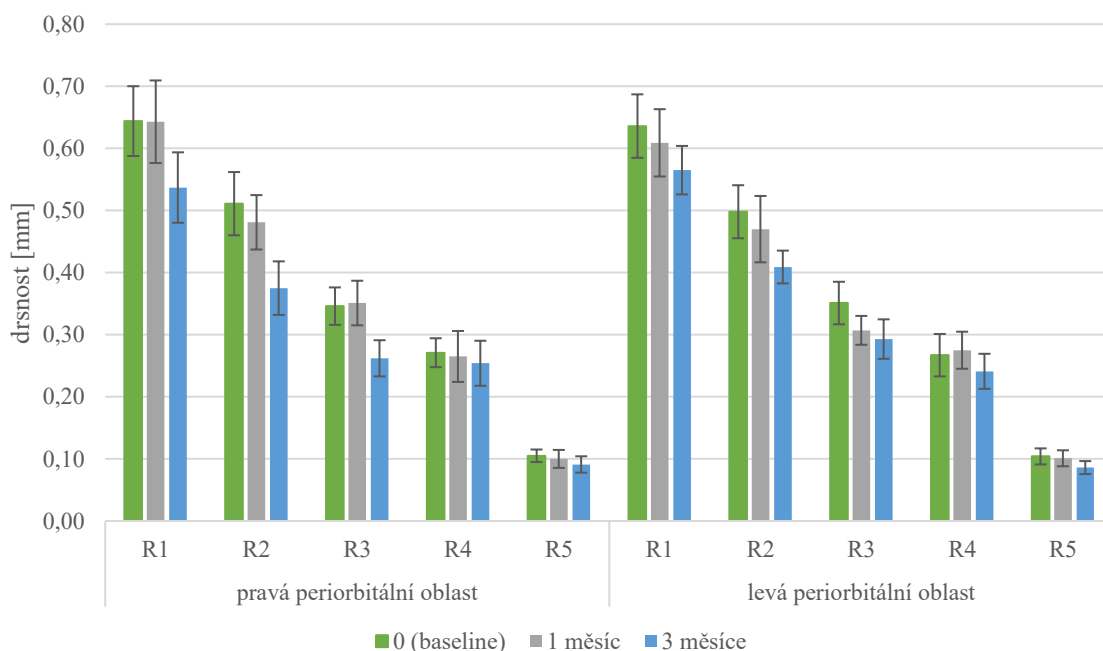
Změna [%]										
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast					Levá periorbitální oblast				
	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5
1 měsíc	-16,0	-3,7	0,0	-24,7	-35,4	-4,9	0,7	-11,1	-11,6	-15,5
3 měsíce	-32,3	-27,3	-26,7	-42,7	-40,7	-15,2	-22,3	-29,0	-9,4	-8,3



Obrázek 25 Parametry drsnosti pro skupinu dobrovolnic s topicky aplikovanou mastí

Tabulka 10 Procentuální změna parametrů drsnosti v čase u skupiny dobrovolnic s topicky aplikovanou mastí

Změna [%]										
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast					Levá periorbitální oblast				
	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5
1 měsíc	-6,4	-5,3	-1,3	-24,6	-2,9	-9,0	-11,7	-5,5	-14,7	-17,6
3 měsíce	-26,4	-30,1	-36,1	-25,7	-41,4	-22,6	-27,9	-27,7	-20,9	-20,3



Obrázek 26 Parametry drsnosti pro skupinu dobrovolnic – s aplikací doplňku stravy a masti

Tabulka 11 Procentuální změna parametrů drsnosti v čase u skupiny dobrovolnic s aplikací doplňku stravy a mastí

Změna [%]										
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast					Levá periorbitální oblast				
	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5
1 měsíc	-0,2	-5,9	1,4	-2,2	-4,8	-4,2	-5,6	-12,5	3,0	-2,9
3 měsíce	-16,6	-26,6	-24,3	-6,3	-13,3	-11,2	-17,9	-16,5	-9,7	-17,3

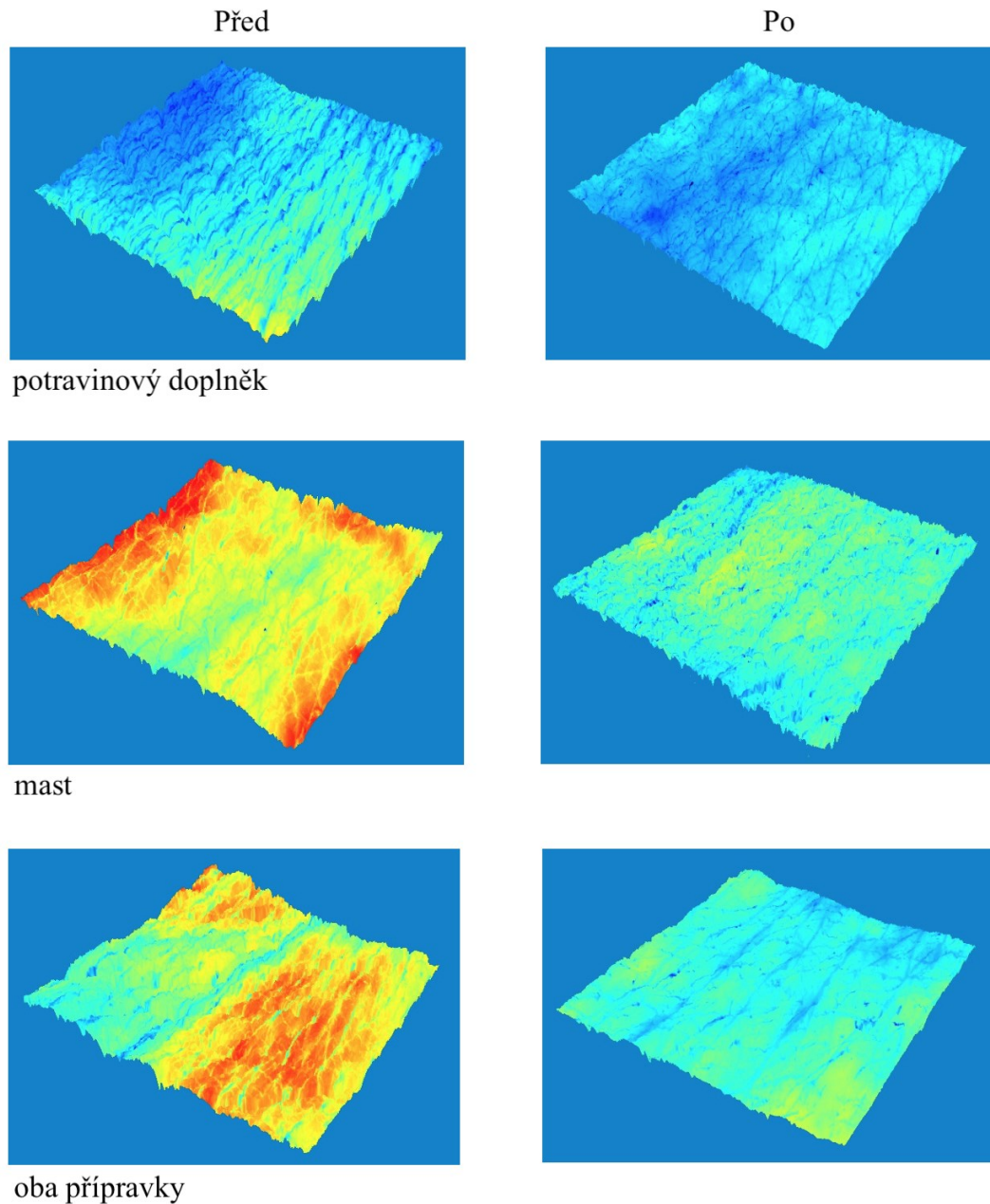
8.5.2 Obraz kožní repliky

Přístroj Skin Visiometer SV 700 vytváří taktéž obraz z repliky, který prezentuje vrásky v testované oblasti v odstínech šedé a zároveň dokáže vymodelovat 3D barevný snímek (viz Obrázky 27 a 28). Pro velmi rychlé a přehledné posouzení zlepšení kožního povrchu

a vyhlazení vrásek jsou níže porovnány obrazy pro tři dobrovolnice, přičemž každá zastupuje jednu sledovanou skupinu. Tyto snímky byly pořízeny jak před započítím ověřování účinku testovaných přípravků, tak po ukončení studie. Z obrazu je jasně patrné, že díky snížení stínování došlo k vyhlazení pokožky a zmenšení hloubky vrásek. Tato rychlá, avšak efektivní metoda nám opět potvrzuje výsledky zobrazené výše v grafech (viz Obrázky 24–26) a lze tedy konstatovat, že oba testované přípravky mají po 3 měsících aplikace pozitivní vliv na celkovou texturu kožního povrchu.



Obrázek 27 Snímky vrásek z periorbitální oblasti před a po 3 měsících ověřování účinnosti přípravků



Obrázek 28 3D Snímky vrásek z periorbitální oblasti před a po 3 měsících ověřování účinnosti přípravků

8.5.3 Anizotropní index

Anizotropie vychází z řečtiny a popisuje závislost směru materiálu. Je důležitou mechanickou vlastností kůže, která je závislá na svalových kontrakcích a odráží elasticitu pokožky. Mladá pokožka vykazuje jemné linie, které drží pokožku ve všech směrech, avšak s přibývajícím věkem tyto jemné linie mizí, naopak dochází k jejich prohlubování, čímž se následně anizotropie zvyšuje [83, s. 23]. Anizotropie je popsána pomocí Langerových linií, neboť odolnost kůže vůči tahu převládá právě v jejich směru. Jde o křivky stanovené na povrchu kůže ve směru její štěpnosti. Pozorováním *dermis* pod elektronovým

mikroskopem bylo potvrzeno, že umístění kolagenních svazků a elastických vláken odpovídá právě Langerovým liniím [87, s. 435].

V diplomové práci byla sledována hodnota anizotropního indexu. Dle předpokladu docházelo s dobou testování přípravků k poklesu této hodnoty. V případě perorální aplikace doplňku stravy se hodnota snížila o $-51,8\%$ (P) a $-50,0\%$ (L). U topické aplikace masti došlo taktéž k poklesu anizotropního indexu o $-63,5\%$ (P) a $-45,2\%$ (L). Nejmenší pokles, v porovnání s ostatními skupinami, zaznamenala skupina dobrovolnic, která užívala oba přípravky současně, a to o $-30,2\%$ (P) a -25% (L). Nicméně pořád lze konstatovat, že oba přípravky ovlivnily anizotropii kůže.

Také u *in vivo* studie [88], ve které byla testována kosmetická formulace s obsahem kolagenního hydrolyzátu na periorbitální oblast, došlo k pozitivním výsledkům. Hodnota anizotropního indexu klesla po 8 týdnech používání o $-28,5\%$ na pravém spánku a $-40,5\%$ na levém spánku.

Tabulka 12 Průměrné hodnoty anizotropie kůže včetně směrodatných odchylek

Anizotropní index [%]						
Doba ověřování	Pravá periorbitální oblast			Levá periorbitální oblast		
	Doplňěk stravy	Mast	Mast + doplňěk stravy	Doplňěk stravy	Mast	Mast + doplňěk stravy
0 (baseline)	$5,6 \pm 0,9$	$5,2 \pm 0,8$	$4,3 \pm 0,6$	$4,8 \pm 0,7$	$4,2 \pm 1,0$	$4,0 \pm 0,8$
1 měsíc	$3,8 \pm 0,8$	$3,9 \pm 0,7$	$3,6 \pm 0,8$	$3,2 \pm 1,0$	$3,7 \pm 1,0$	$3,5 \pm 0,7$
3 měsíce	$2,7 \pm 0,8$	$1,9 \pm 0,5$	$3,0 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,8$	$3,0 \pm 0,5$

ZÁVĚR

V teoretické části diplomové práce byla definována rostlina konopí z botanického hlediska, její druhy a možnosti pěstování. V návaznosti na tuto kapitolu byly rozebrány fytkanabinoidy a jejich biosyntéza. Dále byl popsán endokanabinoidní systém spolu s aplikačními možnostmi kanabinoidů ve farmacii a kosmetice. Následuje kapitola věnována současnému stavu na poli legislativy a využití kanabinoidů v kosmetice v souladu s Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009, o kosmetických přípravcích.

Cílem praktické části bylo zjistit, a to za využití neinvazivních metod formou testování *in vivo*, zda mohou přípravky firmy Cannasan Pro s.r.o. obsahující právě konopný olej a kanabinoidy aplikované perorálně a topicky vykazovat pozitivní vliv na biofyzikální vlastnosti pokožky v periorbitální oblasti.

Byl zjištěn pozitivní vliv testovaných přípravků na úbytek množství vrásek pomocí zobrazovací kamery. Zmírnění kožního mikroreliefu, respektive vyhlazení pokožky v periorbitální oblasti bylo prokázáno také pomocí další topografické metody. Po 3 měsících ověřování účinnosti obou přípravků byla zaznamenána výrazná redukce vrásek, avšak je třeba zmínit, že již po 1 měsíci byla pozorována hladší textura pokožky. U obou testovaných přípravků byl potvrzen vliv na zlepšení mechanických vlastností kůže, čemuž odpovídá snižování hodnot anizotropie v průběhu studie. U pokožky ošetřené konopnou masťou docházelo s jejím dlouhodobějším používáním k mírnému snižování hodnot pH, zatímco potravinový doplněk měl opačný vliv a hodnoty pH pokožky posouval velmi mírně do oblasti neutrální. Z výsledků u parametru TEWL lze konstatovat, že oba přípravky také zlepšovaly stav kožní bariéry. Na druhou stranu ani jeden z testovaných přípravků nepodpořil hydrataci pokožky. Nicméně zde je třeba připomenout, že výrobce zejména u potravinového doplňku deklaruje schopnost detoxikace organismu. Nejednoznačný vliv přípravky projevovaly v případě deskvamace, avšak v jejich složení nebyly přítomny složky, které by měly přispět k olupování kůže či fungovat jako chemický či fyzikální peeling.

Experimentem bylo nakonec prokázáno mnoho pozitivních účinků přídatku konopného oleje a kanabinoidů do testovaných formulací, a to především na pružnost pokožky, její vyhlazení a redukci obličejových vrásek. Vliv na zlepšení měli zajisté i zbylé emolientní složky obsažené ve formulaci a došlo tedy k jejich vzájemným synergickým účinkům. V současné době přibývá množství pozitivních studií zaměřených na vliv kanabinoidů na lidský organismus, proto je oprávněné také jejich využívání v kosmetice.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SMALL, E. *Cannabis: A Complete Guide*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2017. ISBN 978-14-987-6163-5.
- [2] VALÍČEK, P. *Rostlinné omamné drogy*. Benešov: Start, 2000. ISBN 80-86231-09-7.
- [3] TYLER, A. *Drogy v ulicích: mýty – fakta – rady*. Praha: I. Železný, 2000. ISBN 80-237-3606-x.
- [4] Historie konopí v Evropě. *Canatura* [online]. [cit. 2020-11-08]. Dostupné z: <https://www.canatura.com/historie-konopi-v-evrope>
- [5] Historie konopí. *Biotox* [online]. [cit. 2020-11-08]. Dostupné z: http://www.biotox.cz/enspyro/pj3kcanhis_4.html
- [6] GROTENHERMEN, F. *Konopí jako lék: praktický rádce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně*. Olomouc: Fontána, 2009. ISBN 978-80-7336-552-3.
- [7] Kam až sahá historie konopí? *Carun* [online]. [cit. 2020-11-08]. Dostupné z: https://www.carun.cz/blog/68_kam-az-saha-historie-konopi
- [8] BOOTH, M. *Cannabis: A History*. USA: Picador, 2005. ISBN 978-0312-42494-7.
- [9] MIOVSKÝ, M. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2.
- [10] Botanická klasifikace konopí. *Biotox* [online]. [cit. 2020-11-12]. Dostupné z: <http://www.biotox.cz/enspyro/pj3pcanp1.html>
- [11] *Cannabis and Cannabinoid Research* [online]. 2018 [cit. 2020-11-12]. ISSN 2378-8763. Dostupné z: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/can.2018.0039>
- [12] HONZÍK, R. *Nové technologické postupy sklizně technického konopí*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2007. ISBN 978-80-87011-31-7.
- [13] *Energetické byliny* [online]. [cit. 2020-12-07]. Dostupné z: http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/skripta/4/energeticke_byliny.html
- [14] *Industrial Hemp Production* [online]. The Pennsylvania State University, 2018 [cit. 2020-12-07]. Dostupné z: <https://extension.psu.edu/industrial-hemp-production>

- [15] Zákon č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. In: *Sbírka zákonů*. 1998. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1998-167/zneni-20170701>
- [16] Zákon č. 134/2016 Sb. o zadávání veřejných zakázek. In: *Sbírka zákonů*. 2016. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-134>
- [17] ELSOHLY, M. A., ed. *Marijuana and the Cannabinoids*. Totowa, NJ: Humana Press, 2007. Forensic Science And Medicine. ISBN 978-1-58829-456-2.
- [18] *Revue české lékařské akademie*. 8. Česká lékařská akademie o.s., 2012. ISSN 1214-8881.
- [19] CITTI, C., P. LINCIANO, S. PANSERI, F. VEZZALINI, F. FORNI, M. A. VANDELLI a G. CANNAZZA. Cannabinoid Profiling of Hemp Seed Oil by Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2019, **10** [cit. 2021-01-15]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: [doi:10.3389/fpls.2019.00120](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00120)
- [20] Konopné složky. *Biotox* [online]. [cit. 2021-01-15]. Dostupné z: <http://www.biotox.cz/enpsyro/pj3pcancel.html>
- [21] BORRELLI, F., I. FASOLINO, B. ROMANO, et al. Beneficial effect of the non-psychoactive plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. *Biochemical Pharmacology*[online]. 2013, **85**(9), 1306-1316 [cit. 2021-01-15]. ISSN 00062952. Dostupné z: [doi:10.1016/j.bcp.2013.01.017](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.01.017)
- [22] BORRELLI, F., E. PAGANO, B. ROMANO, et al. Colon carcinogenesis is inhibited by the TRPM8 antagonist cannabigerol, a Cannabis-derived non-psychoactive cannabinoid. *Carcinogenesis*[online]. 2014, **35**(12), 2787-2797 [cit. 2021-01-15]. ISSN 1460-2180. Dostupné z: [doi:10.1093/carcin/bgu205](https://doi.org/10.1093/carcin/bgu205)
- [23] IZZO, A. A., F. BORRELLI, R. CAPASSO, V. DI MARZO a R. MECHOULAM. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. 2009, **30**(10), 515-527 [cit. 2021-01-15]. ISSN 01656147. Dostupné z: [doi:10.1016/j.tips.2009.07.006](https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.07.006)
- [24] HILL, A. J., C. M. WILLIAMS, B. J. WHALLEY a G. J. STEPHENS. *Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in CNS disorders* [online].

2012, **133**(1), 79-97 [cit. 2021-02-21]. ISSN 01637258. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2011.09.002

[25] *Legalizace (free magazín pro konopnou kulturu): první magazín pro konopnou kulturu*. Praha: Legal Publishing, 2015. ISSN 1804-9818.

[26] LU, H-Ch. a K. MACKIE. Review of the Endocannabinoid System. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging* [online]. 2020 [cit. 2021-02-16]. ISSN 24519022. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpsc.2020.07.016

[27] LIGRESTI, A., L. DE PETROCELLIS a V. DI MARZO. From Phytocannabinoids to Cannabinoid Receptors and Endocannabinoids: Pleiotropic Physiological and Pathological Roles Through Complex Pharmacology. *Physiological Reviews* [online]. 2016, **96**(4), 1593-1659 [cit. 2021-02-16]. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00002.2016

[28] HOWLETT, A. C. *The cannabinoid receptors* [online]. 2002, **68-69**, 619-631 [cit. 2021-02-16]. ISSN 10988823. Dostupné z: doi:10.1016/S0090-6980(02)00060-6

[29] Endokanabinoidní systém: Nahlédněme pod pokličku jeho fungování a možností. *ProLekare* [online]. [cit. 2021-02-17]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/tema/endokanabinoidni-system/detail/endokanabinoidni-system-nahledneme-pod-poklicku-jeho-fungovani-a-moznosti-115918>

[30] CRAVATT, B. F., D. K. GIANG, S. P. MAYFIELD, D. L. BOGER, R. A. LERNER a N. B. GILULA. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature*[online]. 1996, **384**(6604), 83-87 [cit. 2021-02-17]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/384083a0

[31] Co je to endokanabinoidní systém a jakou má roli v lidském těle? *Cannadata* [online]. [cit. 2021-02-16]. Dostupné z: <https://cannadata.cz/clanky/co-je-to-endokanabinoidni-system-a-jakou-ma-rolu-v-lidskem-tele>

[32] CATERINA, M. J. TRP Channel Cannabinoid Receptors in Skin Sensation, Homeostasis, and Inflammation. *ACS Chemical Neuroscience* [online]. 2014, **5**(11), 1107-1116 [cit. 2021-03-24]. ISSN 1948-7193. Dostupné z: doi:10.1021/cn5000919

[33] JEONG, S., M. KIM, S. LEE a B. PARK. Epidermal Endocannabinoid System (EES) and its Cosmetic Application. *Cosmetics* [online]. 2019, **6**(2) [cit. 2021-03-24]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics6020033

- [34] MULLER, Ch., P. MORALES a P. H. REGGIO. Cannabinoid Ligands Targeting TRP Channels: a review. *Frontiers in Molecular Neuroscience* [online]. 2019, **11**(6), 710-723 [cit. 2021-03-24]. ISSN 1662-5099. Dostupné z: doi:10.3389/fnmol.2018.00487
- [35] TÜTING, T. a E. GAFFAL. Regulatory Role of Cannabinoids for Skin Barrier Functions and Cutaneous Inflammation. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies* [online]. Elsevier, 2017, 2017, 543-549 [cit. 2021-02-24]. ISBN 9780128007563. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-800756-3.00067-3
- [36] RÍO, C., E. MILLÁN, V. GARCÍA, G. APPENDINO, J. DEMESA a E. MUÑOZ. The endocannabinoid system of the skin. A potential approach for the treatment of skin disorders. *Biochemical Pharmacology* [online]. 2018, **157**, 122-133 [cit. 2021-02-24]. ISSN 00062952. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2018.08.022
- [37] PERTWEE, R G. Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem.* 1999 Aug;6(8):635-64. PMID: 10469884.
- [38] *TURKISH JOURNAL OF BOTANY* [online]. 43. 2019 [cit. 2021-03-24]. ISSN 13036106. Dostupné z: <http://online.journals.tubitak.gov.tr/openDoiPdf.htm?mKodu=bot-1907-15>
- [39] PERTWEE, R G. The pharmacology of cannabinoid receptors and their ligands: an overview. *International Journal of Obesity* [online]. 2006, **30**(S1), S13-S18 [cit. 2021-02-21]. ISSN 0307-0565. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ijo.0803272
- [40] PEČ, J., E. RIEDINGEROVÁ, J. MARTIN, Z. KRŠKOVÁ a J. DUŠEK. *Therapeutic potential of phytocannabinoids and synthetic derivatives affecting human endocannabinoid system* [online]. 2008 [cit. 2021-02-21]. Dostupné z: <https://www.prolekarniky.cz/casopisy/ceska-slovenska-farmacie/2008-5/terapeuticke-moznosti-fytokanabinoidu-a-syntetickych-derivatu-pusobicich-na-endokanabinoidni-system-u-cloveka-887/download?hl=en>
- [41] JÄRVINEN, T., D. W PATE a K. LAINE. *Cannabinoids in the treatment of glaucoma* [online]. 2002, **95**(2), 203-220 [cit. 2021-02-21]. ISSN 01637258. Dostupné z: doi:10.1016/S0163-7258(02)00259-0
- [42] HAMPSON, A. J., M. GRIMALDI, J. AXELROD a D. WINK. Cannabidiol and (-) 9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences [online]. 1998, **95**(14), 8268-8273 [cit. 2021-02-21]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.95.14.8268ú

[43] HILL, R. J., S. E. WESTON, N. A. JONES, et al. Δ^9 -Tetrahydrocannabivarin suppresses in vitro epileptiform and in vivo seizure activity in adult rats. *Epilepsia* [online]. 2010, **51**(8), 1522-1532 [cit. 2021-02-21]. ISSN 00139580. Dostupné z: doi:10.1111/j.1528-1167.2010.02523.x

[44] MOUNESSA, J. S., J. A. SIEGEL, C. A. DUNNICK a R. P. DELLAVALLE. The role of cannabinoids in dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2017, **77**(1), 188-190 [cit. 2021-03-14]. ISSN 01909622. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaad.2017.02.056

[45] DOBROSI, N., B. I. TÓTH, G. NAGY, et al. Endocannabinoids enhance lipid synthesis and apoptosis of human sebocytes via cannabinoid receptor-2-mediated signaling. *The FASEB Journal* [online]. 2008, **22**(10), 3685-3695 [cit. 2021-03-14]. ISSN 0892-6638. Dostupné z: doi:10.1096/fj.07-104877

[46] OLÁH, A., B. I. TÓTH, I. BORBÍRÓ, et al. Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. *Journal of Clinical Investigation* [online]. 2014, **124**(9), 3713-3724 [cit. 2021-03-14]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI64628

[47] ALI, A., N. AKHTAR. The safety and efficacy of 3% Cannabis seeds extract cream for reduction of human cheek skin sebum and erythema content. *Pak J Pharm Sci.* 2015 Jul;28(4):1389-95. PMID: 26142529.

[48] KIRCIK L. A nonsteroidal lamellar matrix cream containing palmitoylethanolamide for the treatment of atopic dermatitis. *J Drugs Dermatol.* 2010 Apr;9(4):334-8. PMID: 20514790.

[49] KOŁODZIEJCZYK, P., L. OZIMEK a J. KOZŁOWSKA. The application of flax and hemp seeds in food, animal feed and cosmetics production. *Handbook of Natural Fibres* [online]. Elsevier, 2012, 2012, 329-366 [cit. 2021-01-18]. ISBN 9781845696986. Dostupné z: doi:10.1533/9780857095510.2.329

[50] A therapeutic effect of cbd-enriched ointment in inflammatory skin diseases and cutaneous scars. *La Clinica terapeutica* [online]. 2019 [cit. 2021-01-18]. Dostupné z: doi:10.7417/CT.2019.2116

[51] LIGEŽA, M., D. WYGLĄDACZ, A. TOBIASZ, K. JAWORECKA a A. REICH. *Natural cold pressed oils as cosmetic products* [online]. 2016, **4**, 443-447 [cit. 2021-01-18]. ISSN 1734-3402. Dostupné z: doi:10.5114/fmpcr.2016.63699

[52] Esenciální olej: další poklad skrytý v konopí. *Bushka* [online]. 2005 [cit. 2021-01-18]. Dostupné z: <http://www.bushka.cz/archiv/esence.html>

[53] ANWAR, F., S. LATIF a M. ASHRAF. Analytical characterization of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil from different agro-ecological zones of Pakistan. *Journal of the American Oil Chemists' Society* [online]. 2006, **83**(4), 323-329 [cit. 2021-01-23]. ISSN 0003-021X. Dostupné z: doi:10.1007/s11746-006-1207-x

[54] DA PORTO, C., D. DECORTI a F. TUBARO. Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops and Products* [online]. 2012, **36**(1), 401-404 [cit. 2021-01-23]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2011.09.015

[55] ANDREASSI, M., P. FORLEO, A. DILOHJO, S. MASCI, G. ARATE a P. AMERIO. Efficacy of γ -Linolenic Acid in the Treatment of Patients with Atopic Dermatitis. *Journal of International Medical Research* [online]. 1997, **25**(5), 266-274 [cit. 2021-02-24]. ISSN 0300-0605. Dostupné z: doi:10.1177/030006059702500504

[56] FIOCCHI, A., M. SALA, P. SIGNORONI, G. BANDERALI, C. AGOSTONI a E. RIVA. The Efficacy and Safety of γ -Linolenic Acid in the Treatment of Infantile Atopic Dermatitis. *Journal of International Medical Research* [online]. 1994, **22**(1), 24-32 [cit. 2021-02-24]. ISSN 0300-0605. Dostupné z: doi:10.1177/030006059402200103

[57] BIAGI P.L., A. BORDONI, S. HRELIA, M. CELADON, G. P. RICCI, V. CANNELLA, A. PATRIZI, F. SPECCHIA, M. MASI. The effect of gamma-linolenic acid on clinical status, red cell fatty acid composition and membrane microviscosity in infants with atopic dermatitis. *Drugs Exp Clin Res.* 1994;20(2):77-84. PMID: 7924900.

[58] BORDONI A., P. L. BIAGI, M. MASI, G. RICCI, C. FANELLI, A. PATRIZI, E. CECCOLINI. Evening primrose oil (Efamol) in the treatment of children with atopic eczema. *Drugs Exp Clin Res.* 1988;14(4):291-7. PMID: 3048953.

[59] NASRI, H., M. BAHMANI, N. SHAHINFARD, A. MORADI NAFCHI, S. SABERIANPOUR a M. RAFIEIAN KOPAEI. Medicinal Plants for the Treatment of Acne Vulgaris: A Review of Recent Evidences. *Jundishapur Journal of*

Microbiology [online]. 2015, 8(11) [cit. 2021-02-27]. ISSN 2008-3645. Dostupné z: doi:10.5812/jjm.25580

[60] *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 31. 2017 [cit. 2021-02-27]. ISSN 09269959. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jdv.14374>

[61] CBD pleťový krém. *Havlikova přírodní apotéka* [online]. [cit. 2021-03-29]. Dostupné z: <https://havlikovaapoteka.cz/cs/cbd/cbd-pletovy-krem-30-ml.html>

[62] Přírodní a bio kosmetika – certifikace. *KEZ* [online]. [cit. 2021-03-29]. Dostupné z: <https://www.kez.cz/prirodni-a-bio-kosmetika>

[63] Pleťový olej s CBD. *Cannor* [online]. [cit. 2021-03-29]. Dostupné z: <https://cannor.cz/zazracny-regeneracni-elixir-pletovy-olej-s-cbd-30ml/>

[64] Konopný vlasový šampon s CBD. *Carun* [online]. [cit. 2021-03-29]. Dostupné z: <https://www.carun.cz/konopna-kosmetika/konopny-vlasovy-sampon-s-kanabidiolem-cbd-bez-sulfatu-45>

[65] Legislativa léčebného konopí v České republice. *Konopná lékarna* [online]. [cit. 2021-4-20]. Dostupné z: <https://konopne-lekarny.cz/2020/09/27/legislativa-lecebneho-konopi-v-ceske-republice/>

[66] LANDA, L. a J. JUŘICA. *Léčebné konopí v současné medicínské praxi*. Praha: Grada Publishing, 2020. ISBN 978-80-247-3967-0.

[67] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. In: *Úřední věstník Evropské unie*. Brusel, 2009. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32009R1223&from=CS>

[68] Visioscope® PC 35. *Courage + Khazaka Electronic* [online]. [cit. 2021-04-01]. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.de/en/23-produkte/alle-produkte/208-visioscope-e>

[69] *Basic Probes Systems – MPA, MDD, Wireless* [online]. [cit. 2021-05-03]. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/all-products/probe-systems/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/182-mpa-e>

- [70] BERARDESCA, E. EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Research and Technology* [online]. 1997, **3**(2), 126-132 [cit. 2021-04-18]. ISSN 0909-752X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0846.1997.tb00174.x
- [71] Corneometer® CM 825. *Courage + Khazaka Electronic* [online]. [cit. 2021-04-01]. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/all-products/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/183-corneometer-e>
- [72] ROGIERS, V. EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences. *Skin Pharmacology and Physiology* [online]. 2001, **14**(2), 117-128 [cit. 2021-04-18]. ISSN 1660-5527. Dostupné z: doi:10.1159/000056341
- [73] Tewameter® TM 300. *Courage + Khazaka Electronic* [online]. [cit. 2021-04-01]. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.de/en/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/172-tewameter-e>
- [74] PARRA, J.L. a M. PAYE. EEMCO Guidance for the in vivo Assessment of Skin Surface pH. *Skin Pharmacology and Physiology* [online]. 2003, **16**(3), 188-202 [cit. 2021-04-19]. ISSN 1660-5527. Dostupné z: doi:10.1159/000069756
- [75] PH-Meter PH 905. *Courage + Khazaka Electronic* [online]. [cit. 2021-04-01]. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/efficacy-tests/skin/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/165-ph-meter-e>
- [76] Skin-Visiometer® SV 700 USB. *Courage + Khazaka Electronic* [online]. [cit. 2021-04-01]. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/all-products/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/160-visiometer-e>
- [77] International Ethical Guidelines for Health-related Research Involving Humans. Council for International Organizations of Medical Sciences and World Health Organization. Geneva (2016).
- [78] Cutaneous bioassay of salicylic acid as a keratolytic. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2005 [cit. 2021-04-11]. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2004.11.032
- [79] TORTORA A., M. BIMONTE, A. TITO, C. ZAPPELLI, F. APONE. Soothing Moves: Cannabis Sativa Cell Culture Alleviates Inflammation. *Cosmetic & Toiletries*, Jan 2021, vol. 136, n. 1, 34-39.

- [80] MILANI M., A. SPARAVIGNA. The 24-hour skin hydration and barrier function effects of a hyaluronic 1%, glycerin 5%, and *Centella asiatica* stem cells extract moisturizing fluid: an intra-subject, randomized, assessor-blinded study. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2017 Aug 11;10:311-315. Dostupné z: doi: 10.2147/CCID.S144180.
- [81] MAHRHAUSER, D., C. NAGELREITER, A. BAIERL, J. SKIPIOL a C. VALENTA. Influence of a multiple emulsion, liposomes and a microemulsion gel on sebum, skin hydration and TEWL. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2015, **37**(2), 181-186 [cit. 2021-05-09]. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/ics.12180
- [82] LAMBERS, H., S. PIESSENS, A. BLOEM, H. PRONK a P. FINKEL. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2006, **28**(5), 359-370 [cit. 2021-04-12]. ISSN 0142-5463. Dostupné z: doi:10.1111/j.1467-2494.2006.00344.x
- [83] Courage + Khazaka electronic GmbH. *Information and Instruction Manual for the Skin-Visiometer SV 700 USB and its Software*. Germany, 2016.
- [84] HANÁKOVÁ, L. *Kosmeceutika a jejich vliv na pokožku*. Zlín, 2019. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.
- [85] UDOMPATAIKUL, M., P. SRIPROJ a P. PALUNGWACHIRA. An oral nutraceutical containing antioxidants, minerals and glycosaminoglycans improves skin roughness and fine wrinkles. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2009, **31**(6), 427-435 [cit. 2021-04-27]. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/j.1468-2494.2009.00513.x
- [86] LEELAPORNPISID P., R. R. WICKETT, S. CHANSAKAOW, N. WONGWATTANANUKUL. Potential of native Thai aromatic plant extracts in antiwrinkle body creams. *J Cosmet Sci*. 2015 Jul-Aug;66(4):219-31. PMID: 26665978.
- [87] AGACHE, P. a P. HUMBERT, ed. *Measuring the Skin*. Germany: Springer-Verlag, 2004. ISBN 978-3-540-01771-4.
- [88] PROKOPOVÁ, A., J. PAVLAČKOVÁ, P. MOKREJŠ a R. GÁL. Collagen Hydrolysate Prepared from Chicken By-Product as a Functional Polymer in Cosmetic Formulation. *Molecules* [online]. 2021, **26**(7) [cit. 2021-04-29]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26072021

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

OSN	Organizace spojených národů
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
ADHD	porucha pozornosti s hyperaktivitou
USA	Spojené státy americké
WHO	Světová zdravotnická organizace
MK	mastná kyselina
CNS	centrální nervová soustava
EKS	endokanabinoidní systém
CBR	kanabinoidní receptory
TEWL	transepidermální ztráta vody
MZ ČR	Ministerstvo zdravotnictví České republiky
SAKL	Státní agentura pro konopí pro léčebné použití

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Druhy konopí – upraveno podle [11]	12
Obrázek 2 Konopí seté – upraveno podle [1, s. 5].....	13
Obrázek 3 Strukturní vzorec THC [vlastní zdroj]	21
Obrázek 4 Strukturní vzorec CBD [vlastní zdroj]	22
Obrázek 5 Strukturní vzorec CBG [vlastní zdroj]	22
Obrázek 6 Strukturní vzorec CBC [vlastní zdroj]	23
Obrázek 7 Strukturní vzorec CBN [vlastní zdroj]	23
Obrázek 8 Biosyntéza hlavních fytoKANABINOIDŮ – upraveno podle [24].....	24
Obrázek 9 Rozmístění kanabinoidních receptorů v lidském těle – upraveno podle [31]	26
Obrázek 10 TRP kanály a CB receptory v kůži – upraveno podle [32]	27
Obrázek 11 Schéma možných využití konopné rostliny – upraveno podle [38].....	29
Obrázek 12 CBD pleťový krém [61]	33
Obrázek 13 Pleťový olej s CBD [63].....	34
Obrázek 14 Konopný šampon s CBD [64]	35
Obrázek 15 Visioskop® PC 35 [68]	40
Obrázek 16 Stanice MPA 10 a příslušné sondy – upraveno podle [69]	41
Obrázek 17 Skin Visiometer SV 700 včetně potřebného příslušenství [76]	42
Obrázek 18 Princip přístroje Skin Visiometr® SV 700 – upraveno podle [76].....	43
Obrázek 19 Změna reliéfu pokožky před a po 3 měsících ověřování účinnosti přípravků .	49
Obrázek 20 Průměrné hodnoty hydratace pokožky v čase	51
Obrázek 21 Průměrné hodnoty TEWL v čase	53
Obrázek 22 Průměrné hodnoty pH v čase	55
Obrázek 23 Kruhová oblast pro vyhodnocení parametrů drsnosti	56
Obrázek 24 Parametry drsnosti pro skupinu dobrovolnic užívajících potravinový doplněk	58
Obrázek 25 Parametry drsnosti pro skupinu dobrovolnic s topicky aplikovanou masťou	59
Obrázek 26 Parametry drsnosti pro skupinu dobrovolnic – s aplikací doplňku stravy a masťou	60
Obrázek 27 Snímky vrásek z periorbitální oblasti před a po 3 měsících ověřování účinnosti přípravků.....	61
Obrázek 28 3D Snímky vrásek z periorbitální oblasti před a po 3 měsících ověřování účinnosti přípravků	62

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1a) Klasifikace kanabinoidů včetně příkladů jednotlivých sloučenin – upraveno podle [17, s. 18]	16
Tabulka 2 Obsah důležitých nenasycených mastných kyselin vybraných rostlinných olejů – upraveno podle [6, s. 195]	32
Tabulka 3 Charakteristika dobrovolnic.....	44
Tabulka 4 Průměrné hodnoty množství vrásek pro jednotlivé skupiny dobrovolnic	48
Tabulka 5 Průměrné hodnoty deskvamace pro jednotlivé skupiny dobrovolnic.....	50
Tabulka 6 Procentuální změna parametru hydratace v čase	52
Tabulka 7 Procentuální změna parametru TEWL v čase	54
Tabulka 8 Procentuální změna parametru pH v čase.....	55
Tabulka 9 Procentuální změna parametrů drsnosti v čase u skupiny dobrovolnic užívajících potravinový doplněk	58
Tabulka 10 Procentuální změna parametrů drsnosti v čase u skupiny dobrovolnic s topicky aplikovanou masťou	59
Tabulka 11 Procentuální změna parametrů drsnosti v čase u skupiny dobrovolnic s aplikací doplňku stravy a masťou	60
Tabulka 12 Průměrné hodnoty anizotropie kůže včetně směrodatných odchylek.....	63

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Prohlášení účastníka studie

Příloha P II: Individuální informovaný souhlas

Příloha P III A: Dotazník

Příloha P III B: Dotazník

Příloha P III C: Dotazník

Příloha P III D: Dotazník

PŘÍLOHA P I: PROHLÁŠENÍ ÚČASTNÍKA STUDIE

Prohlášení účastníka studie

Souhlasím se svou účastí ve studii, kde bude sledován vliv na pokožku komerčně dostupných přípravků na bázi konopí od výrobce Cannasan Pro s. r. o. tř. Svobody 737, Malenovice 763 02 Zlín:

- potravinového doplňku Cannasan Imuno (notifikován jako doplněk stravy Ministerstvem zemědělství, číslo zprávy EPO: 2018123115331048795, doručeno dne 31. 12. 2018);
- konopné masti (Zpráva o bezpečnosti kosmetického přípravku ref. č. 0305184 ze dne 13. 12. 2019)

Test bude veden pod záštitou doc. MUDr. M. Bučka, CSc. Beru na vědomí, že experiment může zahrnovat riziko nežádoucích účinků na kůži. Toto riziko mi bylo detailně objasněno a mohl(a) jsem se informovat o všech podrobnostech experimentu.

Vím, že mohu kdykoliv odvolat svůj souhlas z účasti v experimentu a mohu kdykoliv odstoupit od své účasti v testu bez udání důvodů.

O experimentu si mohu si vyžádat další informace a oznámit nežádoucí účinky u vedoucího studie, a to kdykoliv na určeném telefonním čísle.

Souhlasím, že data získaná během studie mohou být statisticky zpracována. Veškeré údaje o průběhu a výsledcích cvičení, které mne mohou identifikovat, zůstanou přísně důvěrné.

Prohlašuji, že toto poučení plně chápu a podepisuji ho při plném vědomí.

.....
celé jméno účastníka studie

.....
podpis účastníka studie

Ve Zlíně dne

PŘÍLOHA P II: INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

Individuální informovaný souhlas

V rámci realizace experimentální části diplomové práce budou testovány různé výrobky s vlivem na pokožku a ústní mikrobiom. U všech výrobků byla posouzena dokumentace z hlediska jejich bezpečnosti. Všechny známé informace o zkoumaných výrobcích dovolují testování na dobrovolnících.

Cíl studie

Cílem práce je zjistit odezvu Vaší pokožky na aplikované přípravky pomocí exaktně změřených veličin.

Podmínky účasti

Před zahájením vlastního experimentu je nutno vyplnit dotazník (viz příloha č. 3). Součástí dotazníku jsou údaje o Vašem zdravotním stavu, alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných studiích. Na základě Vašich pravdivých odpovědí bude rozhodnuto o účasti v daném experimentu.

Metodika testu

Experiment bude prováděn diplomantkami pod dohledem kvalifikovaných pracovníků Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky a dermatologa. Plánovaná práce zahrnuje monitorování změn vlastností pokožky po perorálním podávání potravinového doplňku Cannasan Imuno a topické aplikaci konopné masti; dále monitorování změn ústního mikrobiomu po perorálním podávání potravinového doplňku Cannasan Imuno a ústní hygieny zubní pastou.

Odstoupení z experimentu

Z experimentu je možno odstoupit při výskytu závažnějších potíží po dohodě s vedoucím diplomové práce.

Rizika a nepříjemnosti

Nejsou očekávána žádná rizika.

PŘÍLOHA P II A: DOTAZNÍK

Dotazník pro účastníka měření

Kód pokusné osoby (evidenční číslo):

Současný zdravotní stav

Vyskytuje se u Vás nyní:	ano	ne	jaké
lupénka			
ekzém			
rakovina kůže			
jiné kožní problémy a onemocnění			
jizvy, mateřská znaménka, jiné vady kůže v místě testu			
zarudnutí kůže po slunění nebo z jiného důvodu v místě testu			
astma vyžadující denní příjem léků			
jiné chronické respirační onemocnění			
diabetes vyžadující léčbu inzulinem			
onemocnění imunitního systému			

Zdravotní stav v minulosti

Prodělal(a) jste:	ano	ne
transplantaci orgánů		
léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících		

Užívání léků

Berete či používáte pravidelně:	ano	ne	jaké
protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

Alergologická léčba

Probíhá u vás v současné době:	ano	ne	jaká
alergologická léčba (kapky, injekce apod.)			
dostali jste poslední dávku během minulého týdne			
očekáváte další dávky v průběhu studie			

Alergie

Projevila se u vás někdy alergie na:	specifikujte:
detergenty a čisticí prostředky	
kosmetické přípravky a vůně parfémů	
přípravky do koupele a na mytí (šampón, mýdlo)	
pleťové krémy a mléka, lotiony	
antiperspiranty a deodoranty	
léky	
jiné materiály	

PŘÍLOHA P II B: DOTAZNÍK

Ústní hygiena a zdravotní stav ústní dutiny

Používáte při ústní hygieně:		ano	ne
zubní kartáček			
zubní nit			
mezizubní kartáček			
ústní voda			
čistič jazyka			
ústní sprej			
bělicí přípravky			
zubní pasta			
Zdravotní stav:	specifikujte:		
citlivost zubů			
zánět dásní			
paradentóza			
zubní kazy			
zubní náhrady			

Pouze pro ženy

Jste:	ano	ne
těhotná nebo kojící		

Doplňující údaje

Zdravotní stav:	ano	ne	specifikujte:
používáte pravidelně jakýkoliv přípravek pro léčbu kůže			
používáte pravidelně jakékoliv léčivo (na předpis, či volně prodejné)			
navštěvujete v současné době lékaře kvůli:			<ul style="list-style-type: none"> • alergiím • kožním problémům • z jiného důvodu
máte nějaké jiné zdravotní potíže			

Účast v dalších studiích

Studie:	Typ studie:	Datum poslední studie:
účastnil(a) jste se někdy kožního testu		
účastníte se v současné době jiné studie jakéhokoliv druhu		

Zkušenost s testovanou látkou

CBD:	ano	ne	specifikujte:
užíval(a) jste v minulosti přípravek s obsahem CBD			
vyskytla se u Vás nějaká negativní reakce během užívání			

PŘÍLOHA P II C: DOTAZNÍK

Ústní mikrobiom – Dotazník stravovacích zvyklostí

Stravovací zvyklosti:		ano	ne
charakterizujte svůj způsob stravování	<ul style="list-style-type: none"> • běžná pestrá strava • vegetariánství • veganství • raw strava • jiné než výše uvedené 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Váš způsob stravování je dle Vašeho názoru	<ul style="list-style-type: none"> • vyvážený • nadbytek cukru • nadbytek tuku • jiné než výše uvedené 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
dodržujete speciální dietu	<ul style="list-style-type: none"> • žádná • redukční • nízkosacharidová • bezlepková • jiné než výše uvedené 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
máte nějaká dietní omezení	<ul style="list-style-type: none"> • celiakie • laktózová intolerance • potravinová alergie (jaká) • jiné než výše uvedené 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		zaškrtněte
typický nápoj, který konzumuji denně v největším množství je	<ul style="list-style-type: none"> • voda • limonády • ovocné džusy/šťávy • čaje • jiné než výše uvedené 	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
můj denní příjem tekutin odpovídá cca	<ul style="list-style-type: none"> • méně než 1,5 l • 1,5 l • 2–3 l • více než 3 l 	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
moje typická jídelní frekvence	<ul style="list-style-type: none"> • 3 jídla denně • 5–6 jídel denně • jiné než výše uvedené 	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>

Doplňující údaje

Jste:		ano	ne
kuřák/kuřačka	<ul style="list-style-type: none"> • nekuřák • příležitostný kuřák • do 5 cigaret denně • do 15 cigaret denně • jiné než výše uvedené 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PŘÍLOHA P II D: DOTAZNÍK

Jak často konzumujete:	nikdy	občas	1–2× týdně	denně
maso				
mléko a mléčné výrobky				
čerstvou zeleninu				
čerstvé ovoce				
cukr				
umělá sladidla				
cukrovinky (čokoláda, bonbóny atd.)				
žvýkačky				
sladké nápoje (limonády, džusy atd.)				
černý čaj				
zelený čaj				
bylinný čaj				
černou kávu				
kávu s mlékem				
tvrdý alkohol				
pivo				
červené víno				
bílé víno				

datum:

podpis účastníka měření:

Pouze pro účely organizátora měření

Na základě zjištěných údajů je účastník a) přijat
b) nepřijat

Zdůvodnění:

Datum:

Podpis organizátora: