

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Diplomová práce

2025

Bc. Volha Filimonava

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

**Syntéza rostlinných terpenů a jejich
charakterizace**

Diplomová práce

2025

Bc. Volha Filimonava

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

**Synthesis of plant terpenes and their
characterization**

Master's thesis

2025

Bc. Volha Filimonava

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Volha Filimonava**
Osobní číslo: **C23246**
Studijní program: **N0531A130028 Analytická chemie**
Téma práce: **Syntéza rostlinných terpenů a jejich charakterizace**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

- Zpracujte literární rešerši na téma konopné terpeny, jejich vlastnosti a charakterizace, dále se zaměřte zejména na terpen hašišen a možnosti jeho laboratorní syntézy.
- V experimentální části se pokuste vyvinout metodu pro laboratorní syntézu hašišenu a připravené produkty analyzujte pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí.
- Získané výsledky zhodnoťte.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **7. února 2025**
Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2025

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne:

Bc. Volha Filimonava

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych vyjádřila upřímné poděkování doc. Ing. Tomáši Bajerovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, vstřícnost a podporu, které mi poskytoval po celou dobu zpracování této diplomové práce.

Dále děkuji společnosti FutuLabs s.r.o. za umožnění přípravy experimentálních vzorků v jejich laboratořích. Zvláštní poděkování si zaslouží Ing. Martin Bernard za jeho významný podíl na přípravě vzorků, poskytnutí potřebného přístrojového vybavení a chemikálií, odborné konzultace a rovněž za pomoc při jazykové korektuře diplomové práce.

Mé poděkování patří také paní Zlatce Krosnářové za její psychologickou podporu, pomoc při balení vzorků a za neustálou motivaci, která mi pomohla překonat náročné etapy při realizaci této práce.

ANOTACE

Tato diplomová práce se zaměřuje na syntézu vybraných terpenických látek, především hašišenu, a jejich následnou charakterizaci pomocí analytických metod. Teoretická část se věnuje přehledu hlavních terpenů obsažených v konopí, jejich biologickému významu, metodám extrakce a syntézy.

Experimentální část popisuje laboratorní syntézu hašišenu z myrcenu pomocí fotochemické cyklizace za použití UV záření, jeho izolaci a identifikaci pomocí GC-MS a dalších metod. Získané výsledky přispívají k hlubšímu pochopení chemických aspektů rostlinných terpenů a jejich potenciálnímu využití ve farmacii a dalších odvětvích.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Terpeny, hašišen, myrcen, fotocyklizace, plynová chromatografie

ABSTRACT

This master's thesis focuses on the synthesis of selected terpenes, particularly hashishene, and their subsequent characterization using analytical methods. The theoretical part provides an overview of major terpenes found in cannabis, their biological significance, and methods of extraction and synthesis.

The experimental section describes the laboratory synthesis of hashishene from myrcene via photochemical cyclization under UV radiation, followed by its isolation and identification using GC-MS and other techniques. The results contribute to a deeper understanding of the chemical and aspects of plant terpenes and their potential applications in pharmaceuticals and other industries.

KEYWORDS:

Terpenes, hashishene, myrcene, photocyclization, gas chromatography

Obsah

Seznam obrázků.....	12
Seznam tabulek.....	13
Seznam příloh.....	14
Seznam zkratk.....	15
Úvod.....	16
1 Teoretická část	17
1.1 Konopí seté	17
1.2 Konopné terpeny	18
1.2.1 Majoritní terpeny v konopí	19
1.3 Současný stav v oblasti extrakce terpenických látek.....	26
1.4 Laboratorní metody syntézy terpenů.....	28
1.4.1 Výběr UV reaktoru při syntéze terpenů.....	29
1.5 Syntéza hašišenu	32
1.5.1 Přirozená produkce hašišenu.....	32
1.5.2 Metody syntézy hašišenu fotocyklizací z myrcenu.....	33
1.6 Charakterizace terpenů pomocí analytických metod.....	35
1.6.1 Plynová chromatografie.....	36
2 Experimentální část.....	39
2.1 Použité chemikálie	39
2.2 Aparatury a přístroje.....	39
2.2.1 Fotoreaktor	39
2.2.2 Destilační aparatura	41
2.2.3 Plynový chromatograf	42
2.3 Pracovní postupy.....	43
2.3.1 Příprava hašišenu.....	43
2.3.2 Plynová chromatografie.....	43

3	Výsledky a diskuse.....	46
3.1	Analýza výchozí a finální reakční směsi	46
3.2	Reakční kinetika přeměny myrcenu na hašišen.	48
3.3	Analýza čistoty cílového produktu a stanovení zbytků rozpouštědel a katalyzátorů.	49
3.4	Radikálová cyklizace myrcenu a související produkty	55
3.4.1	Význam spektrálního složení UV výbojky při syntéze hašišenu	57
3.5	Stabilita hašišenu v čase	58
3.6	Využití hašišenu v průmyslových aromatických směsích	60
	Závěr	62
	Zdroje	63
	Přílohy	72

Seznam obrázků

Obrázek 1. Struktura D-limonenu (1) a L-limonenu (2)	19
Obrázek 2. Struktura α-myrcenu (3)	21
Obrázek 3. Struktura β-myrcenu (4)	21
Obrázek 4. Struktura α-pinenu (5)	22
Obrázek 5. Struktura β-pinenu (6)	23
Obrázek 6. Struktura karyofylenu (7)	24
Obrázek 7. Struktura hašišenu (8)	24
Obrázek 8. Schéma fotocyklizace myrcenu 4 na hašišen 8	33
Obrázek 9. Schéma fotoreaktoru.....	40
Obrázek 10. Fotoreaktor.....	40
Obrázek 11. Foto rtuťové výbojky.....	41
Obrázek 12. Destilační aparatura.....	41
Obrázek 13. Schéma fotocyklizace myrcenu 4 na hašišen 8	43
Obrázek 14. Kinetika myrcenu a hašišenu v čase.....	48
Obrázek 15. Závislost poměru ploch píku hašišenu a vnitřního standardu v jednotlivých destilačních frakcích.....	50
Obrázek 16. Graf kalibrace acetonaftonu.....	53
Obrázek 17. Graf kalibrace cyklohexanu.....	54
Obrázek 18. Mechanismus cyklizace myrcenu 4 na hašišen 8 a limonenové deriváty.	56
Obrázek 19. Graf stability hašišenu v čase.....	59

Seznam tabulek

<i>Tabulka 1. Složení výchozí reakční směsi.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabulka 2. Složení finální reakční směsi.. ..</i>	<i>46</i>
<i>Tabulka 3. Destilační frakce a jejich teplotní intervaly.</i>	<i>49</i>
<i>Tabulka 4. Složení finální reakční směsi.</i>	<i>50</i>
<i>Tabulka 5. Bilance reakce - konverze myrcenu na hašišen.</i>	<i>52</i>

Seznam příloh

Příloha 1. GC-MS chromatogram výchozí reakční směsi.....	72
Příloha 2. GC-MS chromatogram reakční směsi po 33 hodinách reakce.	72
Příloha 3. GC-MS chromatogram reakční směsi po 72 hodinách reakce.	73
Příloha 4. GC-MS chromatogram destilační frakce 147-158 °C.....	74
Příloha 5. GC-MS chromatogram terpenové směsi “Moroccan Hash“.....	74

Seznam zkratek

CB ₂	Kanabinoidní receptor 2
CBD	Kanabidiol
CO ₂	Oxid uhličitý
DMAPP	Dimethylallylpyrofosfát
EI	Elektronová ionizace
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GPP	Geranylpyrofosfát
HPLC	Vysokotlaká kapalinová chromatografie
H-terpen	Hašišen
IPP	Isopentenylpyrofosfát
IR	Infračervená spektrometrie
LED	Elektroluminiscenční dioda
LRI	Lineární retenční index
<i>m/z</i>	Poměr hmotnosti k náboji
MEP	Plastidiová methylethrythritol fosfátová cesta
MS	Hmotnostní spektrometrie
MVA	Cytosolická mevalonátová cesta
NMR	Nukleární magnetická rezonance
RI	Retenční index
SFE	Superkritická fluidní extrakce
SPE	Extrakce tuhou fází
THC	Tetrahydrokanabinol
TOF	Analyzátor doby letu
UV	Ultrafialové záření
UV-Vis	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie

Úvod

V posledních desetiletích přitahují rostlinné extrakty a jejich aktivní složky, terpeny, velkou pozornost výzkumníků a odborníků v oblasti chemie a medicíny díky svým jedinečným vlastnostem a svému potenciálu. Terpeny jsou velkou a rozmanitou skupinou uhlovodíků, které se nacházejí v rostlinných silicích. Mají význam nejen tím, že dodávají rostlinám jejich charakteristické vůně a chutě a působí jako obrana proti škůdcům, ale také tím, že se účastní různých biochemických procesů spojených s růstem a vývojem rostlin. Tyto sloučeniny se syntetizují z jednoduchých uhlovodíků enzymatickým procesem, který začíná spojováním isoprenových jednotek, což určuje jejich chemickou strukturu a rozmanitost. Jsou důležitými složkami v syntetické a přírodní chemii, protože mají schopnost interagovat s biologickými systémy a mají různé farmakologické účinky. Jedním z takových terpenů, který je zvláště zajímavý, je hašišen (5,5-dimethyl-1-vinylbicyclo[2.1.1]hexan).

Hašišen je organická sloučenina, která byla identifikována při výzkumu konopných silic. Díky svým strukturálním vlastnostem a účinným látkám je atraktivní pro vědecký a aplikovaný výzkum. Pro pochopení jeho úlohy a použití je však důležité vzít v úvahu obecné principy terpenoidních sloučenin a metody používané k jejich zkoumání, jako například plynová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektrometrií (GC-MS), a také mikrobiologické testy, které mohou poskytnout informace o potenciální antibakteriální aktivitě či bezpečnosti sloučenin.

Význam terpenů přesahuje jejich biologickou úlohu v rostlinách. Tyto sloučeniny přitahují pozornost vědců a průmyslu díky svým rozmanitým vlastnostem a potenciálním aplikacím. Terpeny mají rozsáhlou škálu biologických aktivit včetně antibakteriálních, antimykotických, protizánětlivých a antioxidačních vlastností. V této souvislosti jsou považovány za slibné sloučeniny pro různá průmyslová odvětví. Používají se při výrobě aromatických látek, parfémů a jako výchozí materiály pro syntézu složitějších chemických sloučenin, jako jsou steroidy a vitaminy. V potravinářském průmyslu se studuje jejich potenciál v roli přírodních konzervačních látek. Ve farmaceutickém průmyslu se terpeny zkoumají jako potenciální účinné látky pro vývoj nových léčiv, zejména v oblasti léčby rakoviny a zánětlivých onemocnění.

1 Teoretická část

1.1 Konopí seté

Jedním z hlavních směrů moderního výzkumu terpenů je studium jejich interakcí s dalšími biologicky aktivními látkami a určení jejich role v synergických účincích. Například v konopí terpeny často interagují s kanabinoidy a zvyšují terapeutické účinky těchto látek. Tato interakce otevírá nové obzory pro vývoj komplexních léčivých přípravků na bázi přírodních rostlinných extraktů.

Konopí seté (*Cannabis sativa*) je jednou z nejstarších a nejrozšířenějších rostlin na světě, která je známá mnoha užitečnými vlastnostmi a rozmanitým využitím v různých oblastech lidské činnosti. Historie konopí sahá až do starověkých civilizací, kde se používalo jako zdroj vláken pro výrobu textilií, provazů a papíru, ale také k léčebným a rituálním účelům.

Konopí je jednoletá rostlina z čeledi konopovitých (*Cannabaceae*). V závislosti na odrůdě a podmínkách pěstování může dosahovat různé výšky, od kompaktních keřků až po vysoké rostliny přesahující tři metry. Má charakteristické dlanité listy a husté větvení, což jí dodává nezaměnitelný vzhled. Z biologického hlediska se konopí vyznačuje vysokou odolností vůči nepříznivým podmínkám prostředí a schopností rychle se přizpůsobit různým klimatickým podmínkám. To z něj činí jednu z nejprizpůsobivějších rostlin pro pěstování, což přispívá k jeho širokému rozšíření na všech kontinentech. Důležitým aspektem je rozdělení na různé biotypy, které se liší chemickým složením a morfologickými vlastnostmi. Mezi hlavní biotypy patří technické konopí s nízkým obsahem psychoaktivních látek a konopí pro léčebné a rekreační účely, které se vyznačuje vysokým obsahem tetrahydrokanabinolu (THC).

Významnými složkami konopí jsou jeho fytochemikálie, včetně kanabinoidů, flavonoidů a terpenů. Konopí je také oblíbené pro možnosti využití v různých průmyslových odvětvích. Vlákna této rostliny se používají k výrobě tkanin, biokompozitů a dokonce i stavebních materiálů. Konopná semena jsou bohatá na bílkoviny a esenciální mastné kyseliny, což z nich činí cennou složku pro potravinářský průmysl. Kromě toho je konopí aktivně zkoumáno a využíváno pro léčebné účely díky bohatému složení účinných látek s protizánětlivými, analgetickými a dalšími terapeutickými vlastnostmi.

[1]

V posledních desetiletích se konopí znovu dostalo do popředí zájmu vědců a průmyslu díky svým ekologickým přínosům a mnoha možnostem využití. Moderní výzkum aktivně zkoumá jeho genetickou výbavu, metody pěstování a potenciální lékařské, průmyslové a environmentální využití. Vzhledem ke své všestrannosti a prospěšným vlastnostem je konopí i nadále důležitým předmětem vědeckého zájmu a inovací v různých oblastech. [2]

1.2 Konopné terpeny

Terpeny představují jednu z nejdůležitějších a nejuniverzálnějších skupin bioaktivních látek, které se v konopí nacházejí. Tyto organické sloučeniny syntetizované rostlinou jsou odpovědné za její charakteristické aroma a její biologickou aktivitu. Tvoří významnou část těkavých složek konopí a ovlivňují jeho léčebné vlastnosti tím, že interagují s kanabinoidy i dalšími fytochemikáliemi. [3] Ačkoli terpeny tvoří pouze část chemického profilu rostliny, jsou důležité při utváření její chuti a interakci s dalšími biologicky aktivními látkami. Terpeny, které se syntetizují v pryskyřičných žlázách rostliny, mají nejen funkční význam pro samotnou rostlinu, protože poskytují ochranu proti škůdcům a chorobám, ale jsou zajímavé i pro lékařské a průmyslové využití.

Z biochemického hlediska jsou terpeny uhlovodíky tvořené isoprenovými jednotkami (C_5H_8). Tyto sloučeniny se dělí do několika tříd podle počtu těchto jednotek: monoterpeny (obsahují dvě isoprenové jednotky), seskviterpeny (tři isoprenové jednotky) a diterpeny (čtyři isoprenové jednotky). Všechny tyto třídy se vyskytují v konopí, což vysvětluje rozsáhlou škálu jeho aromatických a biologických vlastností. Koncentrace a typ terpenů v rostlině se mohou lišit v závislosti na genetických faktorech, podmínkách pěstování a zpracování, což z jejich profilů činí důležitý parametr ve výzkumu a aplikacích konopí. [3]

Funkční úloha terpenů v rostlině je mnohostranná. Především mají obrannou funkci, chrání rostlinu před fytopatogeny a škůdci. Terpeny mohou přitahovat opylovače a odrazovat predátory, čímž vytvářejí kolem rostliny chemickou obranu. Za stresových podmínek, které představuje sucho, UV záření nebo mechanické poškození, rostliny často zvyšují syntézu terpenů, což ukazuje na jejich význam pro adaptaci a přežití. [4] Kromě biologické úlohy v rostlině mají konopné terpeny významný terapeutický potenciál. Tyto sloučeniny vykazují širokou škálu farmakologických účinků, včetně protizánětlivých [5], antioxidačních [6], analgetických [7], antibakteriálních [8] a antivirových [9] vlastností. Na rozdíl od kanabinoidů, jako je tetrahydrokanabinol (THC) a kanabidiol (CBD), nemají

terpeny psychoaktivní vlastnosti, ale mohou modulovat účinky kanabinoidů prostřednictvím jevu známého jako doprovodný efekt. [10] Tato interakce naznačuje, že terapeutický účinek směsi terpenů a kanabinoidů může být silnější než účinek každé z těchto sloučenin samostatně. Právě tato vlastnost dělá z terpenů důležité složky léčivých přípravků na bázi konopí.

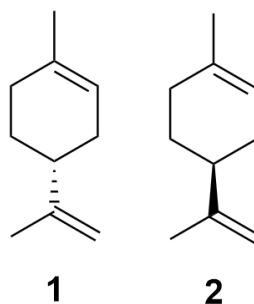
Koncentrace a složení terpenů v konopí jsou faktory, které určují jeho aromatické vlastnosti. Charakteristická vůně konopí, která může být od zemité a dřevité až po citrusovou a sladkou, je dána dominantními terpeny. Profily aromatických látek se používají ke klasifikaci různých odrůd konopí a mohou sloužit jako ukazatel jeho kvality a terapeutické účinnosti. [11]

Současný výzkum terpenů z konopí je zaměřen na podrobné studium jejich biologické aktivity a potenciálního lékařského využití. Je důležité poznamenat, že navzdory četným studiím zůstává mnoho aspektů účinků terpenů na lidský organismus nedostatečně prozkoumáno, což otevírá široké perspektivy pro další výzkum. Mezi potenciální oblasti výzkumu patří studium interakce terpenů se systémy organismu, jejich role při léčbě různých onemocnění a možnosti využití terpenů jako přírodních konzervačních látek nebo jako složek aromatických a kosmetických výrobků. [12]

1.2.1 Majoritní terpeny v konopí

1.2.1.1 Limonen

Limonen je cyklický monoterpen, který se hojně vyskytuje v rostlinách a vyznačuje se silným citrusovým aroma a vysokou těkavostí. Jeho chemická struktura zahrnuje šestičlenný kruh s jednou dvojnou vazbou. Existují dva stereoizomery limonenu: D-limonen a L-limonen, jejichž strukturní vzorce jsou znázorněny na *Obrázku 1*.



Obrázek 1. Struktura **D-limonenu (1)** a **L-limonenu (2)**.

D-Limonen

Mezi terpeny zaujímá D-limonen zvláštní místo, protože tvoří hlavní složku většiny citrusových olejů. Kromě toho se nachází v éterických olejích rostlin, jako je kmín, bergamot a kumin, kde tvoří důležitou součást aromatické kompozice. [13]

D-limonen má velký potenciál ve farmacii. Výzkumy ukazují, že tento izomer vykazuje mnoho terapeutických účinků, včetně protirakovinných [14], analgetických [15], gastroprotektivních vlastností [16], schopnosti předcházet žaludečním vředům [17], antioxidačních [18] a protizánětlivých účinků [19] a přispívá ke zlepšení funkce plic. [20]

L-Limonen

L-limonen, se vyznačuje terpentýnovou vůní a je rovněž přítomen v rostlinách, kde představuje hlavní složku těkavých látek, které uvolňují duby a borovice. [21]

Praktické využití limonenu

Limonen nachází široké uplatnění v průmyslu. Díky svým aromatickým a chuťovým vlastnostem se hojně využívá jako přísada do parfémů, nápojů, detergentů, mýdel a čisticích prostředků pro domácnost. Kromě toho slouží jako základní surovina pro syntézu různých látek vyskytujících se v přírodě, avšak obtížně izolovatelných, například *p*-cymenu. [22]

1.2.1.2 Myrcen

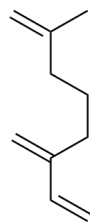
Myrcen (C₁₀H₁₆) je cyklický monoterpen, který patří mezi uhlovodíky obsahující dvě dvojně vazby. Jeho strukturní vzorec tvoří lineární řetězec se dvěma konjugovanými dvojnými vazbami. Myrcen se vyskytuje ve dvou izomerních formách: **α -myrcen** a **β -myrcen**, které se liší uspořádáním dvojných vazeb.

Vlastnosti a výskyt myrcenu

Myrcen je bezbarvý olej s charakteristickou vůní připomínající pelargónie. Přestože jeho čistá forma není běžně využívána jako ochucovadlo, má významné uplatnění při syntéze dalších látek. [23]

α -Myrcen

- Strukturní vzorec α -myrcenu je znázorněn na *Obrázku 2*.



3

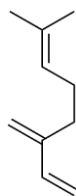
Obrázek 2. Struktura α -myrcenu (3).

- **Výskyt a syntéza:** α -Myrcen je méně běžnou formou myrcenu a v přírodě se nevyskytuje. Jeho syntéza je možná například metodou navrženou Pigulevskim, která zahrnuje dehydrataci linaloolu za použití jodové katalýzy. [24]
- **Využití:** Přestože α -myrcen není tak hojně studován jako jeho izomer β -myrcen, nachází uplatnění především jako výchozí materiál pro syntézu specifických látek, například derivátů naftohydrochinonu, které jsou známé svými cytotoxickými účinky. [25]

β -Myrcen:

- **Struktura:**

Strukturní vzorec β -myrcenu je znázorněn na *Obrázku 3*.



4

Obrázek 3. Struktura β -myrcenu (4).

- **Výskyt:** β -Myrcen je běžnější formou a nachází se v esenciálních olejích rostlin, jako je chmel, tymián, citronová tráva a vavřík. Je to bezbarvá olejovitá kapalina s příjemnou vůní, což z ní činí oblíbenou složku v parfumerii a při výrobě vonných látek. [26]
- **Biologické účinky:** Výzkumy ukazují, že β -myrcen má široké terapeutické účinky, včetně protirakovinných účinků, snižování oxidativního stresu, protizánětlivých vlastností, analgetických účinků. [27, 28]

- **Průmyslové aplikace:** Díky unikátní struktuře je β -myrcen intenzivně zkoumán v oblasti ekochemie. Jeho kopolymerizace s dalšími látkami umožňuje výrobu biologicky rozložitelných termoplastických elastomerů, plastů a gum. [29, 30]

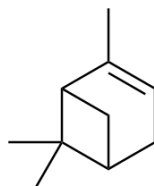
1.2.1.3 Pinen

Pinen je monoterpen přítomný ve dvou hlavních stereoizomerech: α -pinen a β -pinen. Oba izomery se nacházejí v různých rostlinách, včetně jehličnanů (zejména borovicové pryskyřice), a mají charakteristický borovicový zápach. Pinen patří do skupiny bicyklických terpenů, což znamená, že jeho struktura zahrnuje dvě konjugované cyklické jednotky. [12]

α -Pinen

α -Pinen je častější izomer pinenu, který patří do skupiny bicyklických monoterpenů. Jeho struktura obsahuje dva kruhy: šestičlenný a čtyřčlenný. Typickou vlastností α -pinenu je dvojná vazba na druhém uhlíku, což jej činí reaktivním při adičních a polymeračních reakcích.

Strukturní vzorec:



5

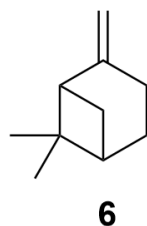
Obrázek 4. Struktura α -pinenu (5).

Je běžně přítomen v esenciálních olejích jehličnatých stromů, jako jsou borovice, a má charakteristické pryskyřičné aroma. Využívá se v chemickém průmyslu pro výrobu vůní, přísad do potravin a v organické syntéze. [31, 32]

β -Pinen

β -Pinen je druhý izomer pinenu, který má mírně odlišnou bicyklickou strukturu. Rozdíl spočívá v poloze dvojná vazby, což ovlivňuje jeho fyzikální a chemické vlastnosti, jako je reaktivita a aroma. β -pinen se nachází v esenciálních olejích rostlin, například v rozmarýnu, petrželové nati a bazalce. [33, 34]

Strukturní vzorec:



Obrázek 5. Struktura β -pinenu (6).

Díky svému aroma, které je méně pryskyřičné a více bylinné než u α -pinenu, se používá v parfumerii, a také jako ochucovadlo v potravinářství. Slouží také jako výchozí látka pro syntézu dalších terpenů. Dvojná vazba je terminální, takže se liší reaktivitou a z hlediska průmyslových aplikací umožňuje získat další produkty s danými strukturními motivy. [31, 35]

Významné aplikace:

- Farmacie, farmakochemie: α -Pinen má antibakteriální a protizánětlivé vlastnosti, díky čemuž je používán v léčivých mastech a inhalátorech [36, 37].
- Parfémy a vůně: Pinen je hlavní složkou esenciálních olejů používaných v parfémářském a kosmetickém průmyslu díky svému svěžímu, dřevitému aroma.
- Rozpouštědla a chemikálie: Pinen se používá při výrobě terpentýnu, který je důležitým organickým rozpouštědlem, a také jako prekurzor pro syntézu dalších chemikálií, včetně kafru a terpenoidů. [38, 39]

Pinen je tedy důležitou složkou nejen v rostlinách konopí, ale je také široce používán v různých průmyslových odvětvích díky svým jedinečným chemickým vlastnostem a průmyslovému významu. [40]

1.2.1.4 Karyofylen

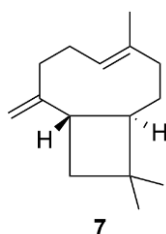
Karyofylen je seskviterpen, který se hojně vyskytuje v éterických olejích různých rostlin, jako je černý pepř (*Piper nigrum*), hřebíček (*Syzygium aromaticum*) a samozřejmě konopí. Karyofylen je mezi terpeny jedinečný v tom, že má nejen aromatické vlastnosti, ale také interaguje s endokanabinoidním systémem, takže je důležitý pro lékařský výzkum. [41]

Struktura a chemické vlastnosti

Karyofylen má cyklickou strukturu sestávající z kondenzovaného devítičlenného a cyklobutanového kruhu, což je v přírodě poměrně unikátní. Hlavním chemickým znakem tohoto terpenu je přítomnost dvojných vazeb v různém uspořádání (jedna *trans*-v cyklu a druhá exocyklická terminální), což mu dává unikátní reaktivitu při různých

chemických reakcích. Komplexní struktura karyofylenu umožňuje například jeho oxidaci na karyofylen oxid delším stáním na vzduchu. Tato látka je významná tím, že funguje jako sensorický marker pro speciálně vycvičené psy určené k detekci drog (zejména marihuany). Tito psi jsou schopni zachytit její přítomnost právě díky oxidovanému karyofylenu (karyofylenoxid), nikoliv díky THC, které je pro ně jinak nečichatelné. [42]

Strukturní vzorec:



Obrázek 6. Struktura karyofylenu (7).

Praktické využití karyofylenu

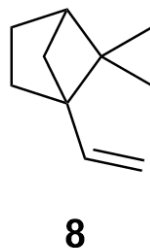
Karyofylen má charakteristické kořenité, dřevité aroma s tóny hřebíčku a pepře, proto je oblíbený v aromaterapii a parfémovém průmyslu kde přispívá k vytváření jedinečných vůní; v potravinářství jako ochucovadlo dodávající intenzivní kořeněné tóny. [43]

Tento terpen je unikátní tím, že působí jako selektivní agonista CB₂ receptoru endokanabinoidního systému, což otevírá možnost jeho využití pro léčebné účely. Karyofylen má protizánětlivé a analgetické vlastnosti, proto je slibný pro použití při léčbě chronické bolesti a zánětů. [44, 45] Pro své antioxidační vlastnosti se používá při vývoji doplňků a léků zaměřených na boj proti zánětlivým onemocněním. [2]

1.2.1.5 Hašišen

Hašišen (H-terpen), chemicky 5,5-dimethyl-1-vinylbicyclohexan. Tento terpen je příkladem složité struktury terpenů, které mohou vykazovat unikátní vlastnosti a biologické aktivity. [11]

Strukturní vzorec:



Obrázek 7. Struktura hašišenu (8).

Vyznačuje se komplexní bicyklickou strukturou s alkylovými substituenty. Jeho chemická struktura zahrnuje dimethylové skupiny a vinylovou skupinu, které přispívají k jeho specifickým vlastnostem. [2]

Hašišen byl identifikován a izolován v 60. letech 20. století během rozsáhlého výzkumu terpenů v konopí, který odhalil širokou škálu chemických sloučenin s potenciálními terapeutickými vlastnostmi. Ačkoli není tak známý nebo studovaný jako některé jiné terpeny, jeho přítomnost v konopí naznačuje, že může mít specifické účinky na uživatele. Terpeny obecně mohou mít různé biologické aktivity, včetně antimikrobiálních, protizánětlivých a analgetických účinků. Hašišen, vzhledem k jeho chemické struktuře, může přispívat k aromatickému profilu konopí a ovlivňovat celkový terapeutický potenciál rostliny. Přestože detailní studie o jeho specifických účincích jsou omezené, obecně se předpokládá, že terpeny s podobnou strukturou mají potenciální využití v rámci aromaterapie a parfumářství. Jelikož moderní trendy naznačují, že terpeny mohou interagovat s endokanabinoidním systémem, vyloučené není ani další směřování v rámci „standardní“ medicíny. [46]

1.3 Současný stav v oblasti extrakce terpenických látek

Extrakce terpenických látek z rostlinných materiálů je důležitým krokem v jejich výzkumu a aplikaci. V současné době existuje několik metod, z nichž každá má své výhody a nevýhody. Jednou z neúčinnějších metod používaných k extrakci terpenů z konopí je superkritická fluidní extrakce (SFE) pomocí oxidu uhličitého (CO₂). [47]

Oxid uhličitý v nadkritickém stavu prochází rostlinným materiálem a rozpouští terpenové sloučeniny. Po výstupu z extrakční komory je ochlazen a převeden na atmosférický tlak, což umožňuje separaci terpenových látek od CO₂, který ze systému odchází v plynné formě. Tímto způsobem se terpenové sloučeniny shromažďují jako čistý extrakt bez zbytků rozpouštědel, což zajišťuje vysokou kvalitu konečného produktu. Tato metoda má řadu výhod. Zajišťuje vysokou čistotu extraktu, protože nevyžaduje použití chemických rozpouštědel, což minimalizuje riziko kontaminace konečného produktu. Superkritický CO₂ je vysoce selektivní, díky čemuž je proces extrakce efektivnější a produkuje produkty s vysokým obsahem cílových terpenů. CO₂ je navíc netoxický a jeho použití minimalizuje negativní dopad na životní prostředí. Přesné extrakční podmínky (teplota a tlak) umožňují přizpůsobit proces extrakci specifických terpenů. Přes všechny výhody má však metoda i své nevýhody. Zařízení pro superkritickou extrakci je drahé, což může být pro některé laboratoře a průmyslová odvětví omezením. Tato metoda také vyžaduje značné technické znalosti pro optimalizaci podmínek extrakce a zajištění vysoce kvalitního produktu. [48]

Další často používanou metodou je destilace. Je to proces založený na oddělení složek ze směsi na základě odpaření složek podle jejich rozdílných teplot varu a následné kondenzace. Existují 3 základní typy, které se používají pro extrakci terpenických látek z rostli: [49, 50]

1. **Hydrodestilace:** Při této metodě se rostlinný materiál zcela ponoří do vody a přivede k varu. Voda zde slouží jako médium k ohřátí éterických olejů, které poté kódestilují s vodní parou. Po ochlazení kondenzátu dochází k oddělení vody a éterického oleje, který se následně sbírá pro další použití.
2. **Parní destilace:** Při této metodě se rostlinný materiál umístí do nádoby, která se nachází nad destilační nádobou s vodou a je tak vystaven proudů horké páry. Pára otevírá buňky obsahující éterické oleje, čímž uvolňuje aromatické molekuly, které se odpařují spolu s párou. Směs páry a éterických olejů se následně ochlazuje, čímž se přeměňuje zpět na kapalinu, ze které se oddělí éterický olej a voda.

3. **Kombinovaná vodní a parní destilace:** Tento způsob kombinuje prvky obou předchozích metod. Rostlinný materiál je ponořen do vody uvnitř destilační nádoby, která je zahřívána, a zároveň je do směsi přiváděna pára. Tento proces umožňuje efektivní extrakci éterických olejů při současné ochraně jejich složení.

Mezi hlavní výhody destilaci patří vysoká účinnost, která umožňuje efektivní získávání esenciálních olejů z různých druhů rostlin. Tento proces zároveň zajišťuje vysokou kvalitu a čistotu získaných olejů, což je klíčové pro jejich využití v kosmetice, aromaterapii nebo farmaceutickém průmyslu. Další výhodou je široké použití, jelikož destilace je univerzální metoda vhodná pro mnoho rostlinných druhů. Proces destilace je navíc relativně jednoduchý, což znamená, že jej lze realizovat i s méně složitým vybavením, a přesto dosáhnout kvalitních výsledků. [51]

Na druhou stranu však destilace přináší i několik nevýhod, které je nutné při její aplikaci zvážit. Jednou z nich je vysoká energetická náročnost, jelikož proces vyžaduje kontinuální zahřívání i následné chlazení. Tento faktor zároveň souvisí s časovou náročností, protože destilace může trvat několik hodin v závislosti na druhu a množství zpracovávaného materiálu. Dalším omezením je riziko degradace některých složek esenciálních olejů při působení vysokých teplot, což může vést ke ztrátě některých cenných aromatických nebo bioaktivních látek. Dále je důležité zmínit, že destilace není vhodná pro všechny rostliny, zejména pro ty, jejichž esenciální oleje jsou citlivé na teplotu nebo jsou rozpustné ve vodě. [52]

Přestože destilace představuje energeticky i časově náročný proces, její vysoká účinnost a schopnost získat esenciální oleje čisté a vysoce kvalitní z ní činí jednu z nejpreferovanějších metod extrakce v průmyslu i laboratorní praxi. [53]

1.4 Laboratorní metody syntézy terpenů

Laboratorní syntéza terpenů zahrnuje několik důležitých aspektů, které určují výsledné parametry konečného produktu. Hlavní charakteristiky procesu jsou: [54]

1. **Výchozí materiály:** Hlavními stavebními kameny pro syntézu terpenů jsou isoprenové sloučeniny (C_5H_8). Tyto molekuly jsou pětiuhlíkaté monomery, které se mohou spojovat do větších struktur, jako jsou monoterpeny ($C_{10}H_{16}$), seskviterpeny ($C_{15}H_{24}$) a další terpenové sloučeniny. Isoprenové sloučeniny lze získat buď z přírodních zdrojů (např. extrahované z rostlin), nebo syntetizovat chemicky, což umožňuje kontrolu nad výchozími materiály a kvalitou syntézy.
2. **Použití katalyzátorů:** Důležitou charakteristikou terpenové syntézy je potřeba použití katalyzátorů ke snížení aktivační energie reakcí a zvýšení jejich účinnosti. Katalyzátory pomáhají urychlit důležité reakce, cyklizaci a isomeraci, bez vysokých teplot nebo extrémních podmínek. Mezi běžné katalyzátory pro syntézu terpenů patří kyselé katalyzátory, jako je kyselina sírová nebo Lewisovy kyseliny (např. chlorid hlinitý) používané pro cyklizační a izomerizační reakce. [41] Organické katalyzátory, jako jsou amidy nebo Brønstedovy kyseliny, lze použít pro mírnější reakce, jako je aktivace dvojnás vazby nebo izomerace. Kromě toho se pro vysoce specifické reakce používají biokatalyzátory - terpenové syntázy, což je důležité ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu, kde se vyžaduje vysoká čistota a bioaktivita produktů. [12]
3. **Reakční kinetika** je důležitá oblast chemie, která studuje rychlost chemických reakcí a jejich mechanismy. Pro výrobu hašišenu a dalších terpenů má pochopení reakční kinetiky význam, protože pomáhá optimalizovat podmínky syntézy, zvýšit výtěžky a minimalizovat tvorbu vedlejších produktů. [55, 56] Níže jsou uvedeny hlavní aspekty ovlivňující reakční kinetiku v kontextu syntézy terpenů.

Reakční mechanismus popisuje posloupnost základních kroků, kterými se reaktanty přeměňují na produkty. Pochopení mechanismu syntézy terpenů umožňuje předpovědět, jaké meziprodukty mohou vznikat, a také jaké podmínky mohou syntézu optimalizovat. Reakční mechanismus lze studovat pomocí různých technik, například kinetické studie, spektroskopie a analýzy meziproduktů.

Reakční podmínky: Syntéza terpenů vyžaduje pečlivě kontrolované podmínky, včetně teploty a tlaku, které mají přímý vliv na rychlost reakce, výtěžek a čistotu produktu. Například polymerace a cyklizace často probíhají při mírných teplotách (50-

150 °C) a někdy vyžadují tlak, aby se stabilizovaly meziprodukty reakce. V závislosti na účelu syntézy a povaze terpenů lze pro dosažení nejlepších výsledků použít různé teplotní režimy a tlaky. [46]

Kromě teploty, tlaku a katalyzátorů hrají důležitou roli parametry jako reakční doba, koncentrace činidel a výběr rozpouštědla. Prodloužení reakční doby může zvýšit výtěžek produktu, ale může také vést ke zvýšení koncentrace vedlejších produktů, jako jsou degradační produkty nebo nežádoucí izomery. Kontrola koncentrace činidel je také důležitá pro udržení optimální reakční rychlosti a minimalizaci vedlejších procesů. [57] Rozpouštědla mohou měnit rozpustnost reaktantů, ovlivňovat stabilitu meziproduktů a modifikovat aktivní formy molekul. [58]

4. **Typy reakcí:** Chemická syntéza terpenů zahrnuje několik typů reakcí, z nichž každá hraje důležitou roli při vzniku požadovaných struktur:

- Izomerizace: přeměna jednoho izomeru na jiný, která je důležitá pro dosažení správné konfigurace terpenů.
- Polymerizace: spojování isoprenových jednotek za vzniku terpenových řetězců.
- Cyklizace: tvorba kruhových struktur, které jsou charakteristické pro mnoho terpenů (např. limonen a pinen).
- Oxidace: přeměna terpenů na terpenové alkoholy nebo kyseliny, která se často používá k výrobě aromatických sloučenin nebo biologicky aktivních látek.

5. **Separace a čištění:** Po dokončení syntézy terpenů je nutné oddělit cílový produkt od vedlejších produktů a nečistot. Mezi nejběžnější purifikační metody patří zejména:

- Destilace: metoda založená na rozdílu bodů varu složek směsi.
- Extrakce: použití rozpouštědel k oddělení cílových terpenů a vedlejších produktů.
- Preparativní chromatografie: metoda založená na oddělení složek směsi podle jejich interakce se stacionární fází.

1.4.1 Výběr UV reaktoru při syntéze terpenů

Popis technologie ultrafialových (UV) reakcí v kontextu syntézy terpenů, jako je hašiš, zahrnuje pochopení principů UV reaktorů a jejich použití k iniciaci a řízení chemických reakcí. UV reaktory jsou důležité v moderních chemických a farmaceutických procesech a poskytují účinné a ekologicky šetrné metody syntézy. [11]

Reakce s ultrafialovým zářením je technika, která využívá UV záření k excitaci molekul a iniciaci chemických přeměn.

Vysokotlaké rtuťové výbojky jsou jedním z nejvýznamnějších zdrojů ultrafialového (UV) záření a nacházejí široké využití v průmyslu, vědě i medicíně. Mezi jejich hlavní vlastnosti patří vysoká intenzita vyzařování v UV i viditelném spektru a relativně dlouhá životnost ve srovnání s jinými výbojkovými zdroji. Vedle vysokotlakých rtuťových výbojek existují i další typy výbojek, které se liší složením a charakteristikami vyzařovaného spektra: [59]

- Nízkotlaké rtuťové výbojky – Tyto výbojky produkují téměř monochromatické záření na vlnové délce 253,7 nm a používají se například v dezinfekčních aplikacích.
- Sodíkové výbojky – Emitují převážně žluté světlo s dominantní emisní čarou na 589 nm a jsou běžně využívány v pouličním osvětlení.
- Metalhalogenidové výbojky – Obsahují směs kovových halogenidů a rtuti, což jim umožňuje generovat široké spektrum světla s lepší barevnou věrností oproti čistě rtuťovým výbojkám.
- Xenonové výbojky – Produkují spojité spektrum podobné dennímu světlu a používají se v projekčních systémech a spektroskopických aplikacích.

UV reaktory umožňují přesnou kontrolu reakčních podmínek, což je rozhodující pro získání čistého a vysoce kvalitního produktu. UV reaktory lze nakonfigurovat tak, aby pracovaly při různých vlnových délkách, což umožňuje výběr optimálních podmínek pro konkrétní chemické reakce. Například zahájení reakce, která přeměňuje výchozí terpenové sloučeniny na hašišen, může vyžadovat specifickou vlnovou délku odpovídající excitaci molekul výchozích složek. UV reaktory navíc umožňují vysokou úroveň kontroly reakční doby a distribuce energie, což pomáhá minimalizovat tvorbu vedlejších produktů a zlepšit selektivitu syntézy. Použití UV reaktorů rovněž pomáhá zkrátit reakční časy a zvýšit výtěžnost produktů, což z nich činí účinný nástroj v laboratorní praxi i průmyslové výrobě.

Proces reakce začíná ozářením činidel UV paprsky, což vede ke vzniku excitovaných molekul. Tyto excitované molekuly mají vysokou energii a mohou se účastnit různých chemických reakcí, které za normálních podmínek neprobíhají. UV záření může iniciovat fotochemický rozklad, fotooxidaci nebo fotosyntézu. [60]

UV reaktory mohou pracovat v různých režimech, jako je kontinuální průtok nebo vsádkový proces, v závislosti na specifikách syntetizovaného produktu a požadovaných podmínkách. V kontinuálních systémech jsou reaktanty do reaktoru přiváděny konstantním průtokem, což umožňuje stabilní reakční podmínky. [57] Vsádkové systémy lze naproti tomu použít k syntéze menších objemů produktů s přísnější kontrolou podmínek. [48, 61]

Důležitým aspektem je také potřeba bezpečnosti při práci s UV reaktory, protože UV záření může být zdraví škodlivé. V laboratorním prostředí se používají speciální ochranné štíty a ventilační systémy, aby se zabránilo vystavení obsluhy tomuto záření. [48]

1.5 Syntéza hašišenu

Hašišen může být produkován buď přirozeně, nebo syntetizován v laboratorním prostředí. V přírodě vzniká složitými biochemickými procesy v rostlině a jeho extrakce je spojena se zpracováním pryskyřice. V laboratorních podmínkách jej lze syntetizovat chemickými metodami a čistit pomocí chromatografických metod. Pochopení těchto procesů je velmi důležité pro další výzkum a aplikaci terpenů v různých oblastech. [60]

1.5.1 Přirozená produkce hašišenu

Bioaktivní terpeny, jako je i hašišen, jsou v rostlině produkovány komplexním procesem syntézy, a to prostřednictvím biosyntetické dráhy terpenů, která začíná základními isoprenovými jednotkami isopentenylpyrofosfát (IPP) a dimethylallylpyrofosfát (DMAPP). Tyto sloučeniny jsou tvořeny dvěma biochemickými procesy: cytosolickou mevalonátovou cestou (MVA) a plastidiovou methylethylerythritol fosfátovou cestou (MEP). Obě dráhy produkují isoprenové prekurzory, které se pak podílejí na syntéze složitějších terpenů.

Během terpenogeneze dochází k polymeraci izoprenových jednotek na geranylpyrofosfát (GPP), který slouží jako klíčový prekurzor pro tvorbu monoterpenů. V případě hašišenu se předpokládá, že po vzniku geranylpyrofosfátu dochází ke specifické cyklizaci vedoucí ke vzniku bicyklické struktury. Tento proces je katalyzován terpensyntázami, enzymy, které řídí reakci za vzniku požadované molekulární konfigurace.

Po cyklizaci klíčových prekurzorů dochází k modifikaci výsledné sloučeniny prostřednictvím enzymatických reakcí, jako je dehydratace a izomerizace, které dokončí syntézu hašišenu. Tyto enzymatické procesy produkují dvě kruhové struktury charakteristické pro bicyklické terpeny, stejně jako vinylovou skupinu připojenou k jedné z těchto struktur. [12]

Ve studii Marchini a kol. [62] se píše o různých aspektech terpenů, včetně jejich struktury, vlastností a potenciálních aplikací. Jedním z témat práce je studium terpenů v konopí, včetně hašišenu. Tato studie podrobně popisuje chemickou strukturu různých terpenů, včetně konopných, a jejich syntetické dráhy. Syntéza hašišenu je popsána jako komplexní proces zahrnující specifické reakce, které vedou ke vzniku strukturních prvků, jako je 5,5-dimethylbicyklický kruh a vinylová skupina. Díky tomu je hašišen chemicky jedinečný a zajímavý pro studium jeho biologických vlastností. Studie také zkoumá

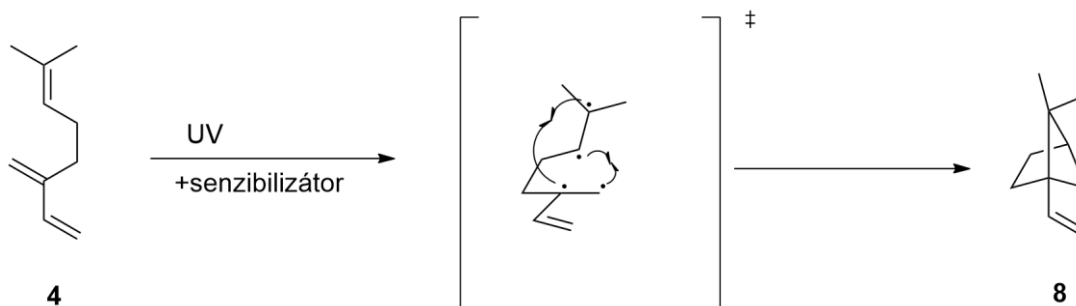
senzorické vlastnosti terpenů. Vědci poznamenávají, že hašišen ovlivňuje aroma rostliny, ve které se nachází.

1.5.2 Metody syntézy hašišenu fotocyklizací z myrcenu.

Fotocyklizace je specifický typ fotochemické reakce, při níž světlo slouží jako katalyzátor pro indukci intramolekulární přestavby vedoucí k uzavření kruhu. Aby byla tato reakce úspěšná, je důležité zajistit optimální podmínky, jako je volba vlnové délky světla, použití senzibilizátorů (je-li to nutné) a kontrola teploty, aby se zabránilo vedlejším reakcím nebo destrukci výchozí látky.

Syntéza hašišenu fotocyklizací z myrcenu je příkladem složité laboratorní metody organické syntézy zahrnující použití fotochemických reakcí za vzniku specifických strukturních jednotek. Podle studií Crowleyho a Daubena [63, 64] přímé ozáření myrcenu UV zářením ($\lambda > 220$ nm) vede k cyklizaci na 1-(4-methylpent-3-en-1-yl)cyclobuten jako hlavní produkt a α -pinen jako vedlejší produkt (cca 10 %). V přítomnosti fotosenzibilizátorů se tvoří hlavně hašišen, nezávisle na typu senzibilizátoru a rozpouštědel. [59, 63, 64]

Proces je založen na využití fotochemické aktivace, která způsobuje intramolekulární interakci dvojných vazeb. Působení světla (obvykle ultrafialového) excituje π -elektrony dvojných vazeb v molekule myrcenu, což vede k jejich radikálové interakci a vzniku nových chemických vazeb (Obrázek 8). Tento fotochemický proces vede ke vzniku polycyklické struktury, hašišenu, což je bicyklický uhlovodík. [54, 62]



Obrázek 8. Schéma fotocyklizace myrcenu 4 na hašišen 8.

Dimerizace myrcenu

Dimerizace myrcenu zahrnuje reakci dvou molekul myrcenu za vzniku větší molekuly. Tento proces probíhá dvěma hlavními mechanismy: [65, 66]

1. Diels-Alderova cykloadice

Diels-Alderova reakce je [4+2] cykloadice, při které reaguje konjugovaný dien s dienofilem za vzniku cyklohexenového aduktu. V případě myrcenu mohou dvě

molekuly myrcenu reagovat Dielsovou-Alderovou reakcí za vzniku kamforenů, jako je *m*-kamforen a *p*-kamforen.

2. Fotochemická dimerizace

Při vystavení UV záření se myrcen může excitovat do tripletového stavu, kde reaguje s další molekulou myrcenu za vzniku cyklobutanových derivátů, které obsahují cyklobutanový kruh a jejich struktura závisí na podmínkách reakce.

Dimery myrcenu nalézají využití v různých oblastech: [66–68]

- Paliva: Hydrogenované dimery myrcenu se testují jako složky vysoce energetických paliv.
- Maziva: Používají se jako základové oleje pro syntetická maziva.
- Polymery: Slouží jako monomery pro syntézu speciálních polymerů.
- Parfémy a vonné látky: Mají příjemnou vůni a používají se ve výrobě parfémů.

1.6 Charakterizace terpenů pomocí analytických metod

Dalším důležitým krokem po syntéze terpenů je charakterizace výsledného produktu, která umožňuje posoudit čistotu, strukturu a funkční vlastnosti. K tomuto účelu se používají spektroskopické metody, separační techniky. Tyto metody umožňují komplexní pochopení vlastností terpenů a jejich potenciálního využití v různých oblastech.

Mezi nejčastěji používané spektrometrické metody patří nukleární magnetická rezonance (NMR) a infračervená spektrometrie (IR). NMR umožňuje podrobné studium molekulární struktury terpenů, včetně jejich izomerního stavu, konformace a možných funkčních skupin. NMR spektra pomáhají určit polohu atomů vodíku a uhlíku, což je důležité zejména u složitých bicyklických terpenů, jako je hašišen. Infračervená spektrometrie umožňuje identifikaci funkčních skupin v molekule (např. hydroxylových nebo karbonylových), které mohou významně ovlivnit fyzikálně-chemické vlastnosti terpenů. Na základě přítomnosti charakteristických absorpčních pásů v IR spektru je možné také usuzovat o struktuře molekuly a přítomnosti specifických vazeb. [40]

K izolaci čistých složek ze směsi získané po syntéze se používají separační techniky.

Mezi nejběžnější patří:

Chromatografické techniky: Plynová chromatografie (GC) a vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC) umožňují účinnou separaci a identifikaci jednotlivých složek na základě jejich fyzikálně-chemických vlastností. GC se používá pro těkavé a termostabilní látky, zatímco HPLC umožňuje separaci netěkavých a polárních látek. Jednou z technik kapalinové chromatografie je preparativní chromatografie, která se využívá k purifikaci, zakoncentrování a izolaci cílové sloučeniny ve větším množství. Kolonová chromatografie je další chromatografická technika, která se používá k separaci složek ze směsi na základě jejich rozdílné afinity k stacionární fázi. [55]

Destilace je běžně používaná technika k separaci kapalných složek na základě rozdílných teplot varu. Existuje několik variant provedení destilace. Jednoduchá destilace se používá pro směsi složek, které mají výrazně odlišné body varu. Frakční destilace slouží k separaci složek s blízkými body varu pomocí separační kolony. Vakuová destilace je určena pro vysokovroucí, teplotně labilní látky, protože umožňuje snížení jejich bodu varu. Membránová destilace je moderní technika využívaná pro specifické aplikace, například v systémech s omezeným množstvím energie. [69–71]

Extrakce tuhou fází (SPE, Solid Phase Extraction) je metoda používaná k izolaci a koncentrování analytů z kapalných vzorků na základě jejich interakcí s pevnou adsorpční fází. SPE umožňuje odstranění interferujících látek a zlepšení detekčních limitů analytických metod, jako jsou chromatografické a spektrometrické techniky. Mezi hlavní výhody patří vyšší selektivita, opakovatelnost, možnost automatizace a miniaturizace oproti klasickým extrakcím kapalina-kapalina. [72]

1.6.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je jednou z nejúčinnějších a nejpoužívanějších metod pro identifikaci a kvantifikaci těkavých organických látek.

Princip:

Plynová chromatografie je založena na separaci složek směsi v plynné fázi, kdy inertní nosný plyn (např. helium nebo dusík) přenáší vzorek přes kolonu naplněnou stacionární fází. Stacionární fáze je obvykle tenká vrstva kapaliny nanesená na povrchu vnitřní stěny chromatografické kolony. Složky směsi se oddělují v závislosti na jejich bodu varu a interakci se stacionární fází. [54, 73]

Jednotlivé fáze analýzy plynovou chromatografií:

Vzorek obsahující terpenové sloučeniny se zavede do chromatografického systému. To se obvykle provádí pomocí autosampleru, který vstříkne vzorek do injektoru chromatografu, kde dochází ke zplynění vzorku.

1. Uvnitř chromatografické kolony, která obsahuje stacionární fázi, jsou složky vzorku separovány na základě jejich chemických vlastností. Proces separace zpravidla probíhá podle následujících kritérií: těkavé sloučeniny se pohybují kolonou rychleji než méně těkavé sloučeniny, při separaci hraje roli také interakce mezi složkami a stacionární fází kolony. Komponenty s různou polaritou budou zpožděny po různou dobu.
2. Každá složka je eluována z kolony v určitém čase, který se nazývá retenční čas. Protože každý terpen má charakteristický bod varu a různou schopnost interagovat se stacionární fází, vystupují z kolony do detektoru postupně, což umožňuje přesnou identifikaci každé složky směsi. [74]

Tyto metody lze doplnit hmotnostní spektrometrií (MS) pomocí níž je možno identifikovat jednotlivé sloučeniny či potvrdit jejich strukturu porovnáním jejich hmotnostních spekter s knihovny známých sloučenin.

1.6.1.1 Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

Plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie (GC-MS) je analytická technika, která kombinuje separační schopnosti plynové chromatografie (GC) s detekčními schopnostmi hmotnostní spektrometrie (MS). GC odděluje složky směsi na základě jejich fyzikálních a chemických vlastností a MS identifikuje oddělené složky na základě jejich ionizace a následné detekce jednotlivých fragmentů podle poměru hmotnosti k náboji. Kombinace plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie poskytuje výkonný analytický nástroj pro podrobné studium terpenů a dalších organických sloučenin. Tato integrace metod umožňuje komplexní studium a charakterizaci i těch nejsložitějších směsí terpenů, poskytuje vysokou přesnost analýzy terpenů a umožňuje identifikovat i drobné nečistoty nebo strukturní odchylky. [57, 75]

Použití GC-MS pro analýzu terpenů má několik důležitých výhod. Poskytuje vysokou citlivost a selektivitu, což umožňuje detekci i malých množství terpenů, které mohou mít významný vliv na biologickou aktivitu extraktů či jiných produktů. Díky vysoké rychlosti analýzy umožňuje GC-MS současné získávání dat z velkého počtu vzorků, což z ní činí ideální nástroj pro hodnocení variability složení terpenů v závislosti na podmínkách růstu a zpracování rostlin. Lze použít ke stanovení dynamiky změn koncentrace terpenů během extrakce, skladování a zpracování, což je důležité pro optimalizaci podmínek přípravy rostlinných extraktů. [46] Použití GC-MS pro analýzu terpenů také odhaluje možné interakce mezi různými terpeny a také jejich interakce s jinými rostlinnými složkami, jako jsou kanabinoidy nebo flavonoidy. To je důležité zejména pro výzkum komplexních přírodních extraktů a vývoj nových produktů na bázi terpenů. GC-MS může poskytovat komplexní informace o vlastnostech terpenů a pomáhá odhalit jejich biologický význam a potenciální aplikace. [54]

Hmotnostní spektrometr se skládá z iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru a detektoru. Iontový zdroj ionizuje složky směsi, tento proces lze provádět různými metodami, jako je např. elektronová ionizace (EI). Hmotnostní analyzátor odděluje ionty na základě jejich poměru hmotnosti k náboji (m/z). Různé typy hmotnostních analyzátorů, jako jsou kvadrupólové analyzátor, analyzátor doby letu (TOF) nebo iontové pasti, mohou používat různé separační principy. [34, 35]. Detektor měří množství iontů s každým poměrem hmotnosti k náboji. Výsledkem je tzv. hmotnostní spektrum.

1.6.1.2 Identifikace látek

Interpretace výsledků hmotnostních spekter zahrnuje porovnání získaných dat se známými spektry terpenů, které lze nalézt ve spektrálních knihovnách nebo vědecké literatuře. To umožňuje identifikaci terpenových sloučenin a potvrzení jejich přítomnosti ve vzorku. Kromě molekulárního iontu, který poskytuje informaci o molární hmotnosti, se analyzují fragmentační vzory, jež mohou pomoci při rozlišení izomerů. [3]

Identifikace látek ze složitých směsí bývá komplikovaná kvůli přítomnosti izomerů a izobarických sloučenin, jejichž hmotnostní spektra jsou často velmi podobná. V některých případech může dojít k situaci, kdy několik sloučenin vykazuje téměř shodné spektrum s vysokou procentuální shodou v databázi, což komplikuje jejich jednoznačné určení. Proto spolehlivější identifikace se dosahuje kombinací retenčního indexu a hmotnostního spektra, přičemž se výsledky porovnávají s dostupnými databázemi. [76]

Retenční indexy (RI) představují standardizovaný způsob porovnávání retenčních časů různých sloučenin při plynové chromatografii. Tento koncept, původně zavedený Kovátsem, umožňuje přesnou identifikaci složek tím, že eliminuje vliv specifických parametrů chromatografického systému. RI se obvykle určují pomocí retenčních časů n-alkanů a lze je použít k predikci dalších fyzikálně-chemických vlastností, jako jsou teplota varu, tlak par nebo molární hmotnost. [77, 78]

Při GC analýze v izotermických podmínkách retenční indexy stanovují pomocí Kovátsových indexů. Při teplotně programované chromatografii se využívá lineární retenční index (LRI), který se vypočítává podle Van den Doolovy rovnice. Tato rovnice umožňuje stanovení LRI na základě času retence referenčních látek, které jsou použity k normalizaci chromatografických dat. Rozdíly mezi těmito metodami mohou vést k nesprávným interpretacím, pokud nejsou správně uvedeny podmínky měření. [79]

Postup izolace terpenů, jejich detekce a interpretace výsledků metodou GC-MS tedy vyžaduje pečlivý přístup v každé fázi. Od správného výběru metody extrakce a přípravy vzorku až po jemné vyladění chromatografických a hmotnostně spektrometrických podmínek hraje každý aspekt analýzy význam při zajišťování přesnosti a spolehlivosti získaných dat. [12]

2 Experimentální část

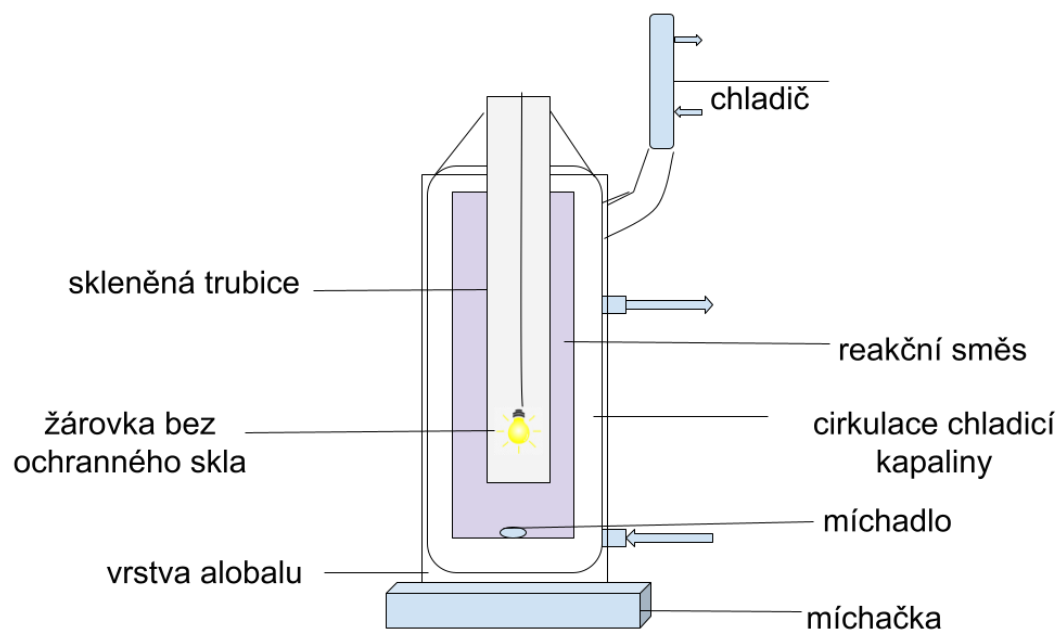
2.1 Použité chemikálie

- Myrcen, CAS:123-35-3 (Merck KgaA, Darmstadt, Německo)
- β -Acetonafton, CAS:93-08-3 (Merck KgaA, Darmstadt, Německo)
- Cyklohexan, CAS: 110-82-7 (Penta, Praha, Česká republika)
- NaBH_4 , CAS:16940-66-2 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)
- Demineralizovaná voda, CAS:7732-18-5 (OQEMA, Šenov, Česká republika)
- MgSO_4 , CAS:7487-88-9 (Lach-Ner s.r.o, Neratovice)
- Roztok standardu n-alkanové směsi (C8 – C33), CPAchem, Stara Zagora, Bulharsko
- Technické plyny – helium 4.6, vodík, dusík (Linde Gas a. s., Praha, Česká republika) a vzduch (z místního rozvodu).
- Tridekan CAS: 629-50-5 (Merck Life Science spol. s r.o., Praha, Česká republika)
- Silikagel (SiO_2 60A, velikost částic 0,006 – 0,035 mm, Fluorochem)

2.2 Aparatury a přístroje

2.2.1 Fotoreaktor

Pro syntézu hašišenu byl použit fotoreaktor (*Obrázek 9*, *Obrázek 10*), který obsahuje několik klíčových komponent: reakční směs je umístěna ve dvouplášťovém (průtokově chlazeném) skleněném reaktoru. V něm je umístěna zásuvná skleněná trubice z křemenného skla (propouští UV záření, běžné borosilikátové sklo jej pohlcuje), ve kterém je dále vložena rtuťová výbojka (Blight, Varšava, Polsko) s odstraněnou ochrannou baňkou obalenou luminoforem (*Obrázek 11*), jde tedy o přímý přenos zdrojového UV světla (prostý jakýchkoli filtrů či modifikátorů vlnových délek). Součástí systému je chlazení, které zajišťuje optimální teplotu reakce, chladicí kapalina cirkuluje kolem reakční směsi. Celý systém je obklopen vrstvou alobalu, která slouží k odrazu světla a maximalizaci účinnosti osvětlení reakční směsi a ochraně zraku. Pro zajištění homogenního promíchání směsi je fotoreaktor vybaven míchadlem, které je poháněno externí magnetickou míchačkou (JoanLab SH-3, Huzho, Čína).



Obrázek 9. Schéma fotoreaktoru.



Obrázek 10. Fotoreaktor.



Obrázek 11. Foto rtuťové výbojky.

2.2.2 Destilační aparatura

Pro rozdestilování produktu syntézy byla použita standardní destilační aparatura, která se skládala z několika klíčových komponent zajišťujících efektivní separaci složek kapalné směsi na základě rozdílných bodů varu (*Obrázek 12*).



Obrázek 12. Destilační aparatura.

Na destilační baňku, umístěnou v topném hníždě s regulací teploty, byla připojena vpichová kolona, vyplněná skleněnými trubičkami o vnějším průměru 7 mm, vnitřním

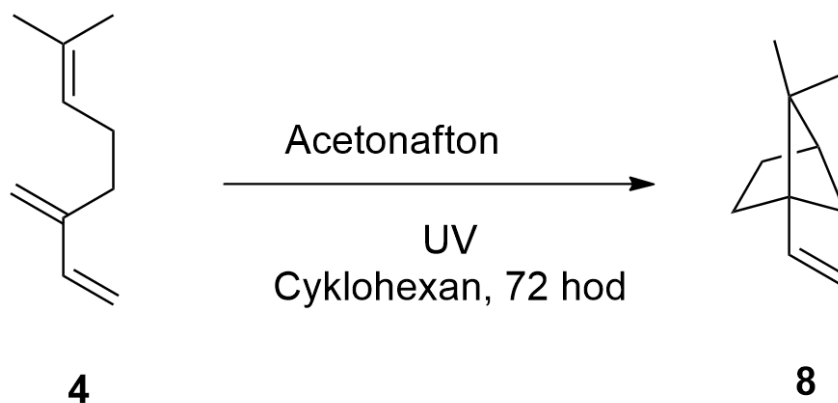
průměru 4 mm a délce 15 mm. Kolona umožňovala lepší separaci složek díky opakovanému odpařování a kondenzaci uvnitř kolony, čímž se zvyšovala účinnost celého procesu destilace. Na vpichovou kolonu navazovala destilační hlava, v jejíž konstrukci byl zabudován teploměr, jenž umožňoval přesné měření teploty par těsně před jejich kondenzací. Destilační hlava zajišťovala kondenzaci par a směrování vzniklého destilátu k následnému sběru do Erlenmeyerove baňky.

2.2.3 Plynový chromatograf

Pro chromatografickou analýzu byly použit plynový chromatograf s hmotnostním detektorem GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japonsko).

2.3 Pracovní postupy

2.3.1 Příprava hašišenu



Obrázek 13. Schéma fotocyklizace myrcenu **4** na hašišen **8**.

Sloučenina **8** byla připravena dle modifikovaného postupu (*Obrázek 13*). Do reaktoru byl navážen myrcen (150 g; 1,1 mol), acetonafton (6,9 g; 0,041 mol) a 1000 ml cyklohexanu jako rozpouštědlo. Fotoreaktor byl spuštěn a osvit probíhal nepřetržitě po dobu 72 hodin.

Každých 12 hodin byla vyčištěna skleněná trubice obsahující žárovku a odebrán 2ml vzorek reakční směsi. Ke každému vzorku bylo přidáno 10 mg borohydridu sodného a několik kapek destilované vody. Borohydrid sodný byl přidán za účelem zastavení reakce a redukce vzniklých radikálů (quenchování reakce). Poté byla separována organická vrstva.

Po uplynutí 72 hodin bylo osvětlení vypnuto a do reakční směsi za míchání přidáno 1,5 g borohydridu sodného. Po 15 minutách byly postupně v desetiminutových intervalech přidány tři dávky vody po 50 ml. Následně byla vodná vrstva oddělena v dělicí nálevce.

Organická fáze byla vysušena pomocí MgSO_4 a přefiltrováním přes 30 g silikagelu. Poté byla provedena destilace za atmosférického tlaku, při které byly odebrány frakce v rozsahu teplot: 80–85 °C, 85–120 °C, 120–147 °C a 147–158 °C (hlavní produkt). Výtěžek hlavní frakce činil 76 g.

2.3.2 Plynová chromatografie

GC analýza probíhala na kapilární koloně LN-5 Sil MS o délce 30 m, vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmu 0,25 μm . Jako nosný plyn bylo použito helium.

- **Analýza časových vzorků reakční směsi a destilačních frakcí**

Vzorky reakční směsi odebírané v čase byly desetkrát zředěny cyklohexanem, vzorky destilačních frakcí byly zředěny stokrát cyklohexanem. Do 975 μl takto naředěných vzorků bylo přidáno 25 μl vnitřního standardu (tridekan zředěný cyklohexanem 1:30).

Analýza byla provedena za následujících podmínek: teplota injektoru byla nastavena na 200 °C, splitovací poměr byl nastaven na 1:100. Teplotní program na koloně začínal na 40 °C, kde setrval po dobu 3 minut, poté se zahřívá rychlostí 3 °C/min na konečnou teplotu 300 °C. Nosný plyn helium byl použit při lineární rychlosti 30 cm/s. Celková doba analýzy činila 89,67 minut.

Detekce byla provedena hmotnostním spektrometrem. Teplota ionizačního zdroje byla 230 °C, solvent cut (odříznutí rozpouštědla) byl 5 minut. Data byla sbírána skenováním od 5,10 do 89,60 minut v rozsahu m/z 35-450.

- **Stanovení zbytkového acetonaftonu v produktu**

Ze zásobního roztoku acetonaftonu v toluenu (0,0501 g/10 ml roztoku) byly v 10 ml odměrných baňkách připraveny jednotlivé roztoky kalibrační řady odebráním 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml a 1 ml, přidáním 25 μl tridekanu jako interního standardu a doplněním toluenem po rysku.

Pro změření vzorku a výpočet koncentrace acetonaftonu v produktu bylo do 1 ml vzorku přidáno 2,5 μl tridekanu jako interního standardu.

Analýza byla provedena za následujících podmínek: teplota injektoru byla nastavena na 200 °C, splitovací poměr byl 1:100. Teplotní program na koloně začínal na 40 °C (3 minuty), následně byla teplota zvyšována rychlostí 3 °C/min na konečnou teplotu 200 °C. Celkový čas činil 56,33 min. Nosným plynem bylo helium při lineární rychlosti 30,0 cm/s.

Detekce byla provedena hmotnostním spektrometrem. Teplota ionizačního zdroje i rozhraní GC-MS byla nastavena na 230 °C. V průběhu analýzy docházelo k vypnutí ionizačního vlákna ve 4,25 minutě a jeho opětovnému zapnutí v 27. minutě. Měření bylo prováděno v módu scan v rozsahu 35–450.

- **Stanovení zbytkového cyklohexanu v produktu**

Ze zásobního roztoku cyklohexanu v toluenu (0,7943 g/10 ml roztoku) byly v 10 ml odměrných baňkách připraveny jednotlivé roztoky kalibrační řady odebráním 0,25 ml, 0,5 ml, 1 ml a 1,5 ml, přidáním 25 μl tridekanu jako interního standardu a doplněním toluenem po rysku.

Pro změření vzorku a výpočet koncentrace cyklohexanu byl připraven roztok v 10 ml odměrné baňce. Do baňky bylo přidáno 1 ml vzorku, 25 µl tridekanu jako interního standardu a následně byl objem doplněn toluenem po rysku.

Analýza byla provedena za stejných podmínek separace i detekce, jako při stanovení zbytkového acetonaftonu.

- **Identifikace látek**

Pro identifikaci látek byly použity knihovny NIST 14 (NIST, Gaithersburg, MS, USA) a FFNSC 2 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko). Ověření identifikovaných látek bylo provedeno pomocí retenčních indexů vypočtených podle vztahu Van den Doola (*rovnice 1*) na základě retenčních časů standardů alkanů C8–C40 analyzovaných za stejných chromatografických podmínek. Identifikovaným sloučeninám z GC-MS byla poté přiřazena relativní procenta vypočítaná z poměru ploch píků látky ku vnitřnímu standardu.

$$RI = 100 * \left(\frac{t'_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) + 100n$$

Rovnice 1. Kde t'_x je redukovaný retenční čas (prakticky byl použit retenční čas t_x), n je počet atomů uhlíku na n-alkanu, t_n je retenční čas n-alkanu a t_{n+1} je retenční čas vyššího n-alkanu.

3 Výsledky a diskuse

3.1 Analýza výchozí a finální reakční směsi

Pro hodnocení průběhu chemické reakce byla provedena plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) jak pro výchozí směs před reakcí, tak pro finální reakční směs po ukončení reakce. Výsledky jsou uvedeny v *Tabulkách 1 a 2*.

Tabulka 1. Složení výchozí reakční směsi.

Výchozí složení reakční směsi				
Ret.čas	CAS číslo	Ret. Index stanovený	Ret. Index databáze	Název
15.481	79-92-5	983	960	Kaen
15.819	123-35-3	990	991	β -Myrcen
16.535	499-97-8	1004	1004	Menta-1(7),8-dien
16.728	13466-78-9	1008	1009	3-Karen

Analýza surové reakční směsi odhalila přítomnost několika sloučenin. Hlavní složkou směsi byl β -myrcen, který byl rozpuštěn v cyklohexanu. Ostatní identifikované sloučeniny byly přítomny v menším množství a představovaly nečistoty β -myrcenu.

Je důležité poznamenat, že identifikace sloučenin byla provedena na základě porovnání jejich retenčních indexů a hmotnostních spekter s databází NIST (National Institute of Standards and Technology). Retenční indexy sloučenin identifikovaných v surové reakční směsi vykazovaly dobrou shodu s retenčními indexy v databázi, což podporuje jejich identifikaci.

Tabulka 2. Složení finální reakční směsi. (Cyklooktadien a kamforen jsou uvedeny jako izomery, protože se v reakční směsi vyskytuje více izomerů těchto sloučenin).*

Finální složení reakční směsi				
Ret.čas	CAS číslo	Ret. Index stanovený	Ret. Index databáze	Název
10.917	108-93-0	892	906	Cyklohexanol
11.300	108-94-1	901	901	Cyklohexanon
12.260	16626-39-4	920	920	Hašišen
14.676		967		Cyklooktadien izomer*

Finální složení reakční směsi				
Ret.čas	CAS číslo	Ret. Index stanovený	Ret. Index databáze	Název
k15.179	127-91-3	978	978	β -Pinen
15.500	79-92-5	984	960	Kamfen
15.860	123-35-3	991	991	β -Myrcen
16.559	499-97-8	1005	1005	Pseudolimonen
16.758	13466-78-9	1008	1009	3-Karen
17.902		1031		Cyklooktadien izomer*
22.221		1115		3,7,11-trimethyl-1,6,10-Dodecatrien-3-ol
44.888	93-08-3	1627	1617	2'-Acetonafton
52.316		1830		Kamforen izomer*
54.423		1891		Kamforen izomer*
55.175		1913		Kamforen izomer*
56.304	20016-73-3	1948	1946	<i>m</i> - Kamforen*
57.494	20016-72-2	1984	1984	<i>p</i> - Kamforen*
57.925		1997		Kamforen izomer*
58.190		2005		Kamforen izomer*

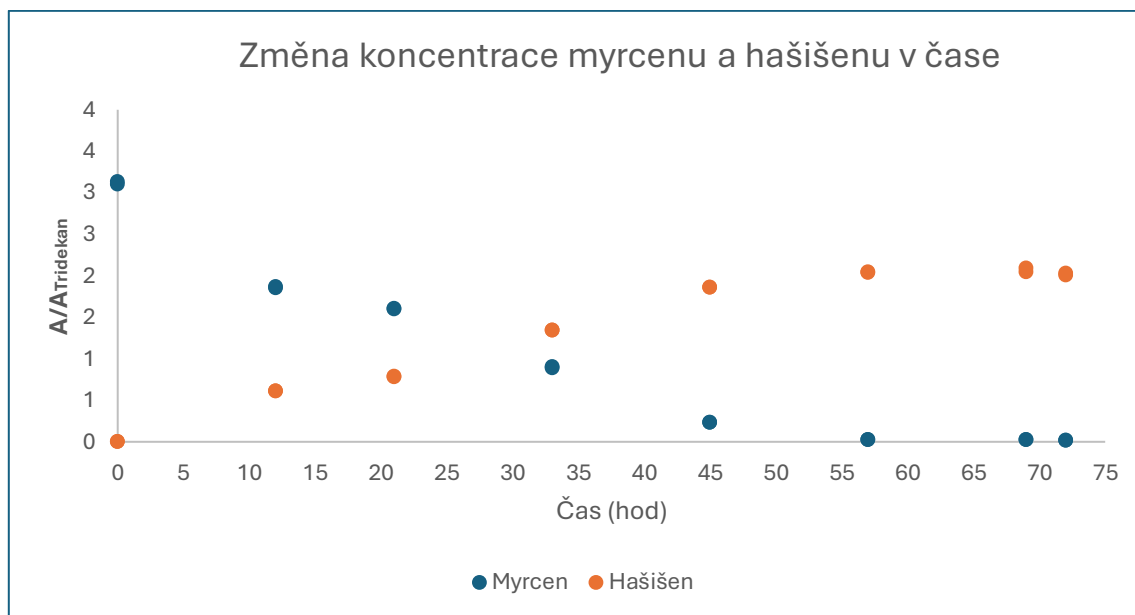
Po 72 hodinách reakce došlo k výrazným změnám v chemickém složení směsi. Zatímco některé původní látky byly stále přítomné, objevila se řada nových produktů, které nebyly zaznamenány ve výchozí směsi. Mezi nejvýznamnější nové sloučeniny patří hašišen (5,5-dimethyl-1-vinylbicyklo[2.1.1]hexan).

Další významnou skupinou nově vzniklých sloučenin jsou kamforenové deriváty. Kamforen je bicyklický terpen, jehož vznik byl popsán i v jiných studiích zaměřených na termální a katalytické přeměny myrcenu.[67, 68] V naší studii jsme identifikovali přítomnost několika izomerů kamforenu, což naznačuje, že reakční podmínky umožnily vznik různých stereoizomerů a substituovaných derivátů této sloučeniny. Nicméně, přesná identifikace jednotlivých izomerů byla komplikovaná kvůli nedostatku odpovídajících retenčních indexů v dostupných databázích. I přes to, že vznik kamforenu byl v publikacích popsán, nebylo možné dohledat retenční indexy pro všechny izomery, což znemožnilo jednoznačnou identifikaci jednotlivých izomerů. Další očekávanou

třídou sloučenin byly cyklooktadieny, které byly rovněž objeveny ve finální reakční směsi. Podobně jako u kamforenových derivátů, i v případě cyklooktadienů jsme se setkali s problémem nedostupnosti retenčních indexů pro jednotlivé izomery. Nicméně, přítomnost cyklooktadienů naznačuje, že reakce probíhá komplexně a vede k tvorbě širokého spektra produktů. Pro detailnější analýzu cyklooktadienů by bylo vhodné použít další analytické techniky, jako je například NMR spektroskopie.

3.2 Reakční kinetika přeměny myrcenu na hašišen.

Pro vyhodnocení změn koncentrací myrcenu a hašišenu byla provedena analýza vzorků, které byly odebrány každých 12 hodin po celou dobu průběhu reakce. Výsledky této analýzy jsou zaznamenány v následujícím grafu (*Obrázek 14*), který znázorňuje závislost koncentrace myrcenu a hašišenu v čase a poskytuje přehled o kinetice přeměny myrcenu.



Obrázek 14. Kinetika myrcenu a hašišenu v čase.

Z grafu je patrné, že koncentrace β -myrcenu (modré body) v průběhu reakce výrazně klesá, přičemž nejvýraznější pokles je patrný v prvních 20 hodinách reakce. Po 45 hodinách už byla koncentrace myrcenu velmi nízká, a po 72 hodinách se blížila k nule. Tento trend naznačuje, že myrcen byl během reakce téměř kompletně přeměněn na jiné produkty.

Naopak hašišen (oranžové body) na začátku reakce nebyl detekován, což potvrzuje jeho nepřítomnost ve výchozí směsi. Postupem času však jeho množství začalo narůstat. Zásadním zjištěním je, že od přibližně 57. hodiny reakce se koncentrace

hašíšenu v reakční směsi již dále nezvyšuje. To naznačuje, že reakce dosáhla rovnováhy nebo se blíží k rovnováze a další prodlužování reakční doby již nevede k významnému nárůstu výtěžku hašíšenu. Tento poznatek má významné praktické důsledky pro optimalizaci reakce. Ukončení reakce po 57 hodinách namísto jejího prodlužování vede k výrazným úsporám:

- Finanční úspory: zkrácení reakční doby snižuje spotřebu energie, což vede k nižším výrobním nákladům.
- Bezpečnostní úspory: kratší reakční doba snižuje riziko nehod a expozice nebezpečným látkám.
- Časové úspory: zkrácení reakční doby urychluje výrobní proces a zvyšuje efektivitu.

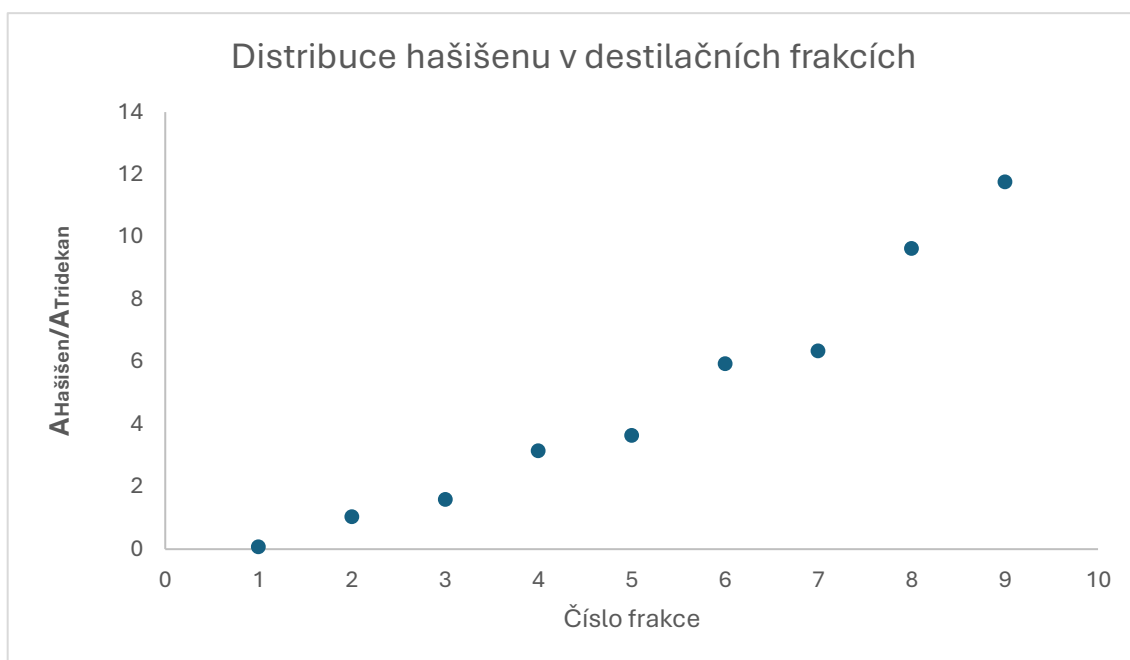
Vzhledem k tomu, že v konečné fázi experimentu již nedochází k dalšímu nárůstu koncentrace hašíšenu, lze předpokládat, že došlo k termodynamickému ustálení reakce.

3.3 Analýza čistoty cílového produktu a stanovení zbytků rozpouštědel a katalyzátorů.

Pro čištění hašíšenu byla použita destilace. Destilační frakce v rozmezí teplot 147–158 °C, která obsahovala nejvyšší podíl hašíšenu (*Tabulka 3, Obrázek 15*), byla vybrána jako finální produkt. Složení této cílové frakce bylo analyzováno pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Výsledky analýzy jsou shrnuty v *Tabulce 4*.

Tabulka 3. Destilační frakce a jejich teplotní intervaly.

Číslo frakce	Interval teplot
1	80-85°C
2	85-90°C
3	90-100°C
4	100-110°C
5	110-120°C
6	120-130°C
7	130-140°C
8	140-147°C
9	147-158°C



Obrázek 15. Závislost poměru ploch píku hašišenu a vnitřního standardu v jednotlivých destilačních frakcích.

Tabulka 4. Složení finální reakční směsi. (* Cyklooktadien je uveden jako izomer, jelikož se v reakční směsi vyskytuje více izomerů této sloučeniny).

Složení cílové frakce				
CAS	Plocha píku (% rel.)	Ret. Index stanovený	Ret. Index databáze	Název
108-93-0	2,43	891	906	Cyklohexanol
108-94-1	0,09	900	901	Cyklohexanon
16626-39-4	78,02	920	920	Hašišen
	0,09	948		Cyklooktadien izomer*
	0,09	950		2-Methylbicyklo[3.2.0]hept-2-en
	0,17	961		Cyklooktadien izomer*
	0,30	967		Cyklooktadien izomer*
127-91-3	0,86	977	978	β -Pinen
79-92-5	1,84	983	960	1-methylen-4-(1-methylethenyl)-cyklohexan
123-35-3	3,19	990	991	β -Myrcen

Složení cílové frakce				
CAS	Plocha píku (% rel.)	Ret. Index stanovený	Ret. Index databáze	Název
	0,11	1000		Bicyklo[4.1.0]heptan, 3,7,7-trimethyl-
499-97-8	8,33	1004	1005	Pseudolimonen
13466-78-9	0,45	1008	1009	3-Karen
	2,86	1030		Cyklooktadien izomer*

Z tabulky je patrné, že cílová frakce obsahuje 78,02 % hašišenu, což potvrzuje účinnost destilace při čištění produktu. Nicméně, frakce stále obsahuje významné množství dalších sloučenin. Mezi identifikované sloučeniny patří: cyklohexanol (2,43 %) a cyklohexanon (0,09 %), tyto sloučeniny mohou být zbytky rozpouštědel nebo produkty oxidace; β -myrcen (3,19 %) naznačuje, že destilace nebyla zcela účinná pro jeho odstranění; pseudolimonen (8,33 %) je vedlejším produktem reakce. Další uhlovodíky a terpeny byly detekovány v menších koncentracích.

Destilace vedla k významnému obohacení hašišenu v cílové frakci. Z této frakce bylo získáno 65 g produktu s obsahem hašišenu 78,02 %. Nicméně frakce stále obsahuje významné množství dalších sloučenin, které mohou ovlivnit kvalitu finálního produktu. Pro další čištění hašišenu by bylo vhodné použít dodatečné separační techniky, jako je například preparativní chromatografie. V laboratorním měřítku se preparativní chromatografie jeví jako ideální metoda pro dosažení vysoké čistoty hašišenu. Nicméně v průmyslovém měřítku se tato metoda stává ekonomicky neúnosnou, protože je nákladná jak z hlediska investičních nákladů na zařízení, tak z hlediska provozních nákladů na spotřebu rozpouštědel a sorbentů. Dále je preparativní chromatografie časově náročná, což může omezovat produktivitu výroby. Proto se v průmyslovém měřítku obvykle preferují jiné separační techniky, jako je například destilace, krystalizace nebo extrakce, které jsou ekonomicky výhodnější a umožňují zpracování velkých objemů produktu. Tyto metody mohou být optimalizovány tak, aby bylo dosaženo vysoké čistoty hašišenu při minimalizaci provozních nákladů a maximalizaci výtěžnosti.

Tabulka 5. Bilance reakce - konverze myrcenu na hašišen.

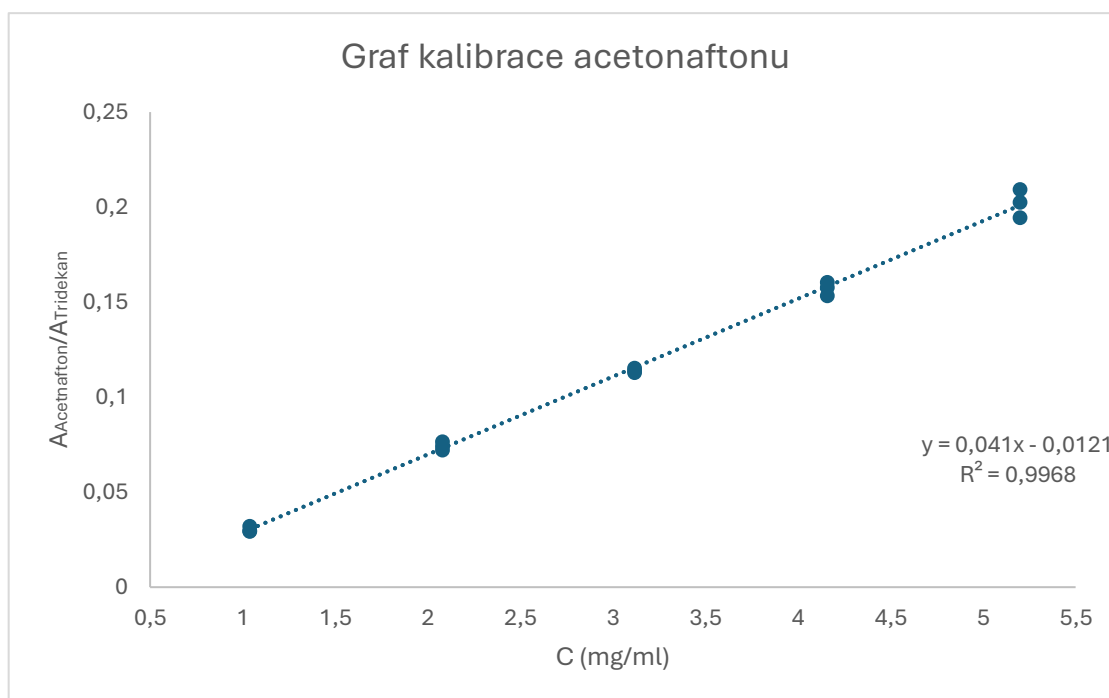
Látka	Hmotnost (g)	Molární hmotnost (g/mol)	Látkové množství (mol)	Konverze %
Myrcen	150	136,24	1,10	
Hašišen	50,84	136,24	0,37	33,90

Pro vyhodnocení účinnosti reakce přeměny myrcenu na hašišen byl vypočten konverzní poměr na základě molárního množství vzniklého produktu ve vztahu k výchozímu molárnímu množství reaktantu (Tabulka 5). Tento přístup umožňuje posouzení efektivity reakčního procesu nezávisle na absolutním množství látky. Z tabulkových údajů je patrné, že z původního množství 150 g myrcenu, což odpovídá 1,10 mol, vzniklo 50,84 g hašišenu, tedy 0,37 mol. Jelikož molární hmotnost obou sloučenin je shodná (136,24 g/mol), výpočet konverzního poměru byl výrazně zjednodušen. Na základě těchto údajů byl konverzní poměr reakce stanoven na přibližně 33,90 %. Tato hodnota poukazuje na skutečnost, že reakce neprobíhá kvantitativně za vzniku hašišenu a dochází k tvorbě vedlejších produktů, což odpovídá známým faktům o této reakci, očekáváním i pozorováním. Jde o radikálovou reakci, ty jsou chronicky známé pro obtížné vedení selektivity a velké množství vedlejších reakcí. Po destilaci finální reakční směsi lze pozorovat velké množství destilačního zbytku, který byl určen jako polymerní hmota na bázi myrcenových či hašišenových jednotek, která chlazením zatuhne až na sklovitou hmotu, má příjemnou mírně terpenickou vůni).

- **Stanovení zbytkového katalyzátoru.**

Graf na *Obrázku 16* ukazuje závislost plochy píku acetonaftonu na jeho koncentraci. Lineární regresí dat byla získána rovnice $y = 4,261x - 0,0121$, kde y představuje poměr plochy píku acetonaftonu ku ploše píku tridekanu, který byl použit jako interní standard, a x koncentraci acetonaftonu.

Koeficient determinace $R^2 = 0,9968$ naznačuje vysokou linearitu kalibrační křivky a potvrzuje dobrou korelaci mezi koncentrací acetonaftonu a plochou píku. Tento výsledek svědčí o přesnosti metody a jejím vhodném použití pro kvantifikaci acetonaftonu ve vzorcích.



Obrázek 16. Graf kalibrace acetonaftonu.

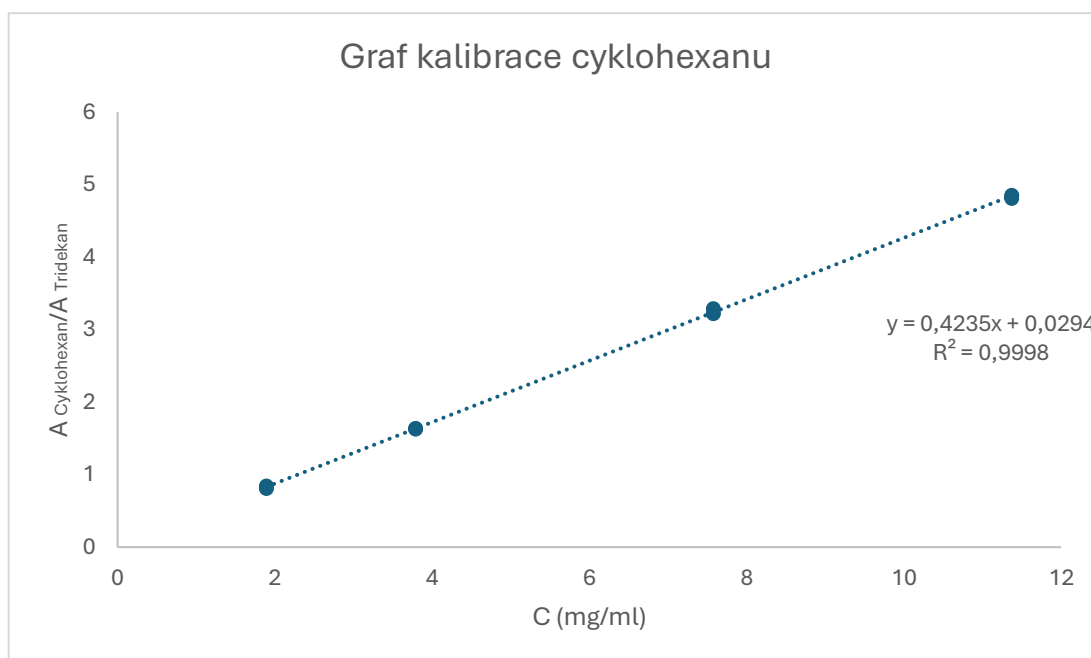
Z analýzy výsledného produktu bylo zjištěno, že koncentrace acetonaftonu je 1,16 mg/ml. Vzhledem k tomu, že acetonafton byl původně použit jako katalyzátor reakce, jeho detekce ve výsledném produktu není překvapivá. Koncentrace 1,16 mg/ml naznačuje, že se jedná o malé množství reziduálního katalyzátoru, který nebyl během destilace odstraněn, je možné, že část katalyzátoru zůstala ve směsi díky ko-destilaci nebo jiným interakcím s reakčními složkami. Jeho důkladnější odstranění by bylo možné např. prodloužením doby účinku NaBH₄ na reakční směs, jelikož ten redukuje acetonafton na méně těkavý alkohol. Acetonafton lze pořídit i v tzv. “food grade” kvalitě, jeho případné stopy tedy nepředstavují výraznější problém.

- **Stanovení zbytkového rozpouštědla.**

Cyklohexan byl v rámci výrobního procesu použit jako rozpouštědlo a byl následně detekován ve finálním produktu.

Pro kvantitativní stanovení byla připravena série standardních roztoků cyklohexanu o koncentracích 1,89 mg/ml, 3,79 mg/ml, 7,58 mg/ml, 11,37 mg/ml. Na základě jejich analýzy byl sestaven kalibrační graf (*Obrázek 17*), který vykazoval velmi dobrou linearitu ($R^2 = 0,9998$). Rovnice kalibrační křivky ve tvaru $y = 0,4235x + 0,0294$ byla následně využita pro výpočet koncentrace cyklohexanu ve vzorcích produktu.

Vypočtená koncentrace zbytkového cyklohexanu činila 4,08 mg/ml, což odpovídá relativně nízkému obsahu zbytkového rozpouštědla.



Obrázek 17. Graf kalibrace cyklohexanu.

Finální produkt, v němž byl stanoven obsah zbytkového cyklohexanu, není určen k perorálnímu ani parenterálnímu podání. Jedná se o vonnou kompozici s obsahem hašišenu, která je určena pro parfémové aplikace. Čistý hašišen se zpravidla nevyužívá jako samostatná vůně či příchut', ale bývá součástí parfémových formulací, kde se obvykle vyskytuje v koncentracích v rozmezí 5–10 %. Vzhledem k charakteru finálního produktu je tedy třeba výsledky interpretovat v kontextu kosmetické a chemické legislativy, nikoliv ve smyslu farmaceutických směrnic. Z hlediska platné evropské legislativy, konkrétně nařízení REACH a nařízení (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích, není pro cyklohexan v parfémových kompozicích stanoven přesný maximální limit. Obecně však platí, že jeho přítomnost by měla být co nejvíce minimalizována, zejména s ohledem na jeho klasifikaci jako těkavé a potenciálně toxické látky.

Zjištěná koncentrace 4,08 mg/ml, což odpovídá přibližně 0,41 %, zůstává v mezích běžně akceptovatelných hodnot pro vonné látky a nepředstavuje riziko z hlediska toxikologického profilu při standardním použití produktu. Z organoleptického hlediska by přítomnost zbytkového cyklohexanu mohla ovlivnit výsledný charakter vůně. V dané koncentraci však nebyly pozorovány žádné negativní sensorické projevy, což naznačuje, že zbytkové množství cyklohexanu nemá výrazný vliv na kvalitu finálního parfémového produktu.

3.4 Radikálová cyklizace myrcenu a související produkty

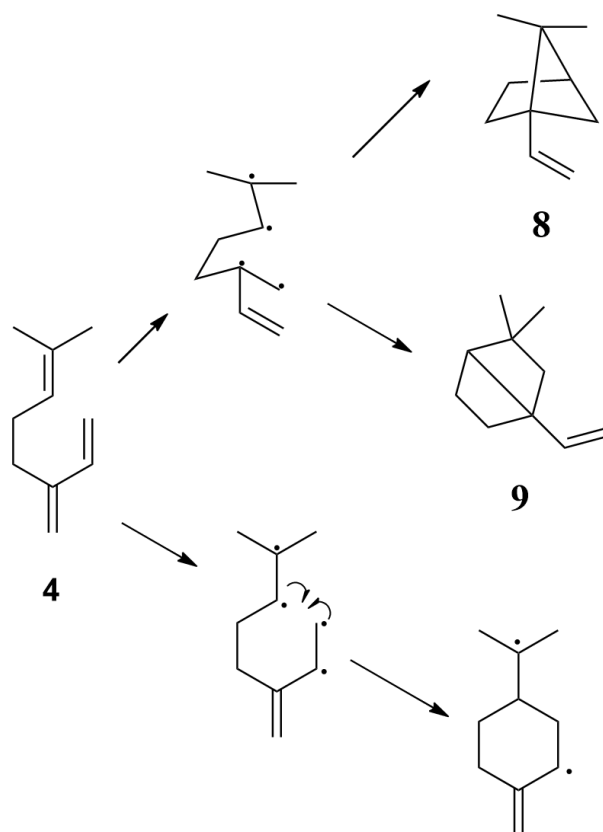
Radikálová cyklizace myrcenu je klíčovým mechanismem, který vede ke vzniku bicyklických a monocyklických terpenoidů, včetně derivátů limonenu. Tato reakce probíhá za podmínek, kdy je v systému přítomen iniciátor radikálové reakce, jako jsou ultrafialové záření nebo peroxidy. Proces probíhá skrze generaci alkylového radikálu na jednom z konců myrcenu, který dále prochází cyklizací a následnými izomerizačními reakcemi (*Obrázek 18*).

Mechanismus radikálové cyklizace myrcenu:

Iniciace: Reakce začíná iniciací, což je proces, při kterém se tvoří radikály. Radikály jsou nestabilní molekuly, které mají nepárový elektron. Iniciace může probíhat různými způsoby, například působením světla, tepla nebo chemických iniciátorů.

Propagace: Propagace vede k tvorbě meziproductů. Radikály se cyklizují, často přes intramolekulární radikálové přemístění, při kterém vzniká bicyklická struktura. V závislosti na reakčních podmínkách mohou vznikat různé izomery bicyklických uhlovodíků. Důležitým faktorem je stabilita meziproductů, kdy výhodnější polohy radikálů či nenasycených vazeb mohou směřovat reakci k určitým derivátům. .

Terminace: K ukončení radikálové řetězové reakce dochází při rekombinaci dvou radikálů, vedoucí k tvorbě stabilních produktů. Může dojít také k disproportionaci, kde jeden radikál odevzdá vodíkový atom druhému, čímž se vytváří směs nasycených a nenasycených produktů.



vedl. produkty s limonenovým skeletem

Obrázek 18. Mechanismus cyklizace myrcenu **4** na hašišen **8** a limonenové deriváty. Sloučenina **9** představuje teoretický product reakce.

V první fázi cyklizace myrcenu dochází k intramolekulární adici vedoucí ke vzniku bicyklických sloučenin. Jedním z možných produktů je **8**, tj. 5,5-dimethyl-1-vinylbicyclo[2.1.1]hexan (hašišen), který je tvořen uzavřením šestičlenného kruhu s přídatným bicyklickým systémem. Tento produkt je stabilizován prostorovými interakcemi, které podporují jeho vznik.

Druhý teoreticky možný bicyklický produkt **9**, 3,3-dimethyl-1-vinylbicyclo[2.2.0]hexan, nebyl experimentálně detekován. Důvodem je jeho nepříznivá geometrie pro cyklizaci podle Baldwinových pravidel, která upřednostňují tvorbu pěti- a šestičlenných kruhů. Tento fakt potvrzuje i experiment, který prokázal absenci tohoto derivátu mezi vzniklými produkty.

Pseudolimonen může vznikat cyklizací myrcenu alternativním seskupením radikálů, které probíhá ne zcela prozkoumaným mechanismem, avšak vznik limonenového skeletu je patrný z *Obrázku 18*. Proces může být veden i přes atypickou konjugovanou adici (nukleofilní adice indukovaná např. kyselé, bazicky apod.), avšak

přesnější mechanistické studie nejsou obsahem této práce a mohou posloužit jako nosné téma pro další výzkumy. Vzhledem k množství detekovaného pseudo-limonenu je patrné, že mechanismus bude poměrně netypický a energeticky nepříliš preferovaný.

Vzhledem k tomu, že cílovým produktem této reakce byl hašišen a experiment probíhal za přítomnosti UV záření s použitím β -acetonaftonu jako katalyzátoru, pseudolimonen vznikal pouze v malých množstvích. Reakční podmínky upřednostňovaly jiné cyklizační dráhy vedoucí k dominantnějším produktům, zatímco tvorba pseudolimonenu zůstala vedlejším procesem.

Produkty radikálové cyklizace myrcenu jsou chemicky blízké složení terpenoidů nalezených ve frakci 147 – 158 °C. Právě deriváty limonenu a podobné sloučeniny mohou hrát roli v senzoričích a farmakologických vlastnostech finálních extraktů. Proto studium cyklizace myrcenu může přispět k lepšímu pochopení biosyntézy a chemických transformací terpenoidů, které jsou důležité v průmyslové produkci hašišenových extraktů. Tento proces tak nabízí potenciální aplikace nejen v syntetické chemii, ale také v oblasti separace a čištění přírodních produktů pro farmaceutické nebo potravinářské využití.

3.4.1 Význam spektrálního složení UV výbojky při syntéze hašišenu

Použitá vysokotlaká rtuťová výbojka BELLIGHT HPM 400W E40 patří mezi výbojky generující široké spektrum záření. Tento typ lampy obsahuje křemennou výbojovou trubici naplněnou parami rtuti. Během provozu dochází k excitaci rtuťových atomů a následnému vyzařování charakteristických emisních čar. Tyto čáry jsou přítomné v ultrafialové, modré, zelené a žluté části spektra.

Spektrální vlastnosti vysokotlakých rtuťových výbojek

Spektrum vysokotlakých rtuťových lamp se vyznačuje několika dominantními emisními čarami, které jsou výrazně silnější než spojitě záření pozadí. Nejvýznamnější z nich jsou: 365 nm (blízké UV záření, 10,7 %); 405 nm (fialová, 4 %); 436 nm (hluboká modrá, 12,6 %); 546 nm (zelenožlutá, 7,1 %); 579 nm (žlutý dvojitý pás, 7,9 %) [83]

Dále jsou v oblasti mezi 250 a 350 nm přítomny kratší UV vlnové délky, které mohou mít zásadní vliv na chemické reakce, protože představují energeticky velmi intenzivní záření a mohou indukovat nežádoucí vedlejší reakce a snižovat výtěžnost cílového produktu. Proto se nabízí otázka, zda by bylo možné dosáhnout vyšší selektivity volbou vhodnějšího zdroje UV světla. Například použití monochromatického UV laseru

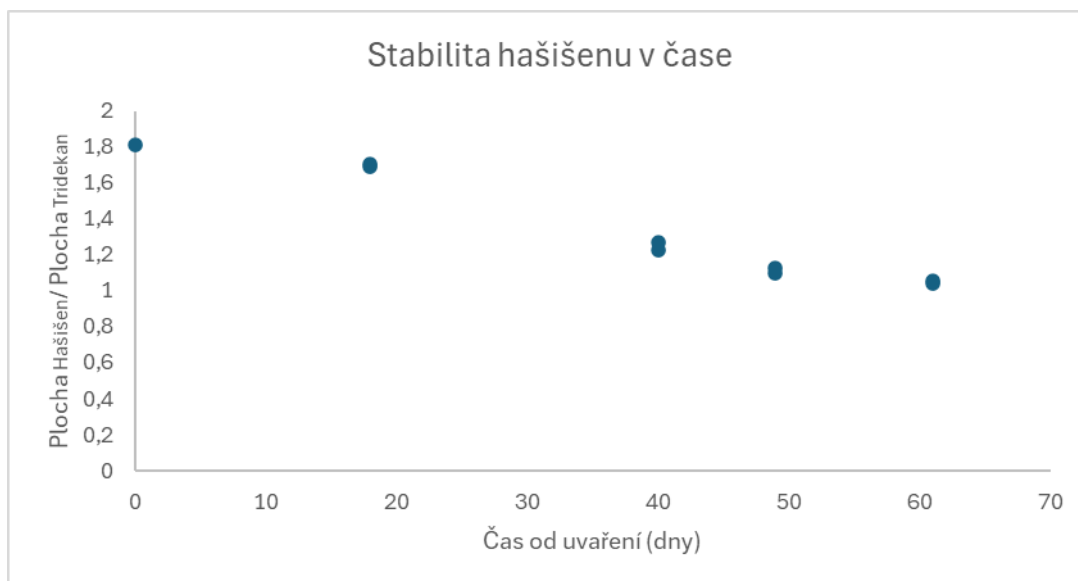
s vlnovou délkou přizpůsobenou optimální absorpci myrcenu by mohlo zvýšit efektivitu cyklizace a minimalizovat vznik vedlejších produktů.

Možnost optimalizace reakčních podmínek by mohla být ověřena spektrofotometricky, přičemž UV-VIS spektrofotometrie by umožnila určit absorpční spektrum myrcenu a jeho intermediátů. Pro optimalizaci radikálové cyklizace myrcenu taky by bylo vhodné provést experimentální srovnání různých zdrojů UV záření. Selektivnější UV zdroj, například LED s přesně definovanou vlnovou délkou nebo filtrovaná výbojka, by mohl zvýšit účinnost reakce. Kromě toho by analýza absorpčního spektra reaktantů mohla poskytnout klíčové informace o nejvhodnějších podmínkách ozáření.

3.5 Stabilita hašíšenu v čase

Po syntéze byl cílový produkt uchovávan v uzavřené lahvičce v lednici při teplotě přibližně 4 °C. Cílem bylo ověřit stabilitu této sloučeniny v běžných laboratorních podmínkách při chlazeném skladování a posoudit míru degradace v průběhu času. Analýza byla prováděna pomocí plynové chromatografie využitím interního standardu (tridekanu), který sloužil k normalizaci výsledků a zajištění srovnatelnosti jednotlivých měření.

Na *Obrázku 19* je znázorněn vývoj relativního množství hašíšenu ve vzorku v závislosti na čase, vyjádřený jako poměr plochy píku hašíšenu ku ploše píku tridekanu. Měření bylo prováděno ve zhruba týdenních až dvoutýdenních intervalech po dobu více než 60 dnů.



Obrázek 19. Graf stability hašišenu v čase.

Z průběhu grafu je zřejmé, že v čase dochází k postupnému poklesu koncentrace hašišenu, a to i při chlazeném skladování. Na počátku (den 0) byl zaznamenán nejvyšší poměr ploch (cca 1,8), což bylo považováno za 100 %. Již po dvaceti dnech došlo k poklesu na přibližně 1,65, což odpovídá snížení koncentrace o přibližně 8 %. Po 40 dnech klesl poměr na hodnoty kolem 1,2, což znamená pokles o zhruba 33 % oproti původní hodnotě. Po 60 dnech se hodnota pohybovala těsně nad 1,0, tedy koncentrace hašišenu poklesla o více než 44 % ve srovnání s počátečním stavem.

Tento vývoj naznačuje, že hašišen postupně degraduje nebo se jinak snižuje jeho koncentrace ve vzorku i za chlazených podmínek, pravděpodobně v důsledku chemické nestability spojené s přítomností vinylové skupiny.

Příčinou této degradace je pravděpodobně přítomnost vinylové skupiny ve struktuře hašišenu. Tato skupina obsahuje konjugovanou dvojnou vazbu, která je náchylná vůči různým degradačním procesům, jako je oxidace na vzduchu, radikálové štěpení, nebo reakce s rozpouštědlem. Takové funkční skupiny jsou známé svou náchylností k rozkladu, a to i při nižších teplotách. Kromě vlivu vinylové skupiny může ke snižování koncentrace přispívat i těkavost hašišenu a jeho potenciální absorpce na stěny nádoby. Zatímco světlo bylo v tomto experimentu vyloučeno jako faktor, zůstává chemická nestabilita hlavním důvodem pozorovaného poklesu.

Na základě výsledků lze konstatovat, že hašišen je z chemického hlediska poměrně nestabilní látka, a pro přesnou kvantitativní i kvalitativní analýzu je nezbytné analyzovat vzorky co nejdříve po přípravě – ideálně do dvou až tří týdnů. Při delším

skladování je třeba počítat s degradačními ztrátami, které mohou ovlivnit jak analytickou přesnost, tak případné biologické testování.

Pro budoucí experimenty by bylo vhodné testovat alternativní způsoby skladování, například zmrazení nebo inertní atmosféru (např. dusík nebo argon), které by mohly výrazně zpomalit degradační procesy a zachovat integritu produktu.

3.6 Využití hašišenu v průmyslových aromatických směsích

Hašišen, jakožto bicyklický terpen s výrazným aromatickým profilem, nachází v posledních letech uplatnění nejen ve výzkumu, ale stále častěji také v průmyslové výrobě aromatických směsí určených pro použití ve vaporizérech, difuzérech či jiných formách aromaterapie. Jeho specifické aroma, které kombinuje zemitost, kořeněné tóny a pryskyřičný charakter, jej činí vhodným základem pro formulace inspirované přírodními pryskyřicemi a extrakty.

V rámci této práce byly praktické zkušenosti získány ve spolupráci se společností FutuLabs s.r.o., kde hašišen se využívá jako součást aromatických směsí imitujících vůně klasického konopného hašiše. Jedním z příkladů je směs s názvem „Moroccan Hash“, která byla navržena tak, aby věrně napodobila tradiční vůni ručně vyráběného severoafrického hašiše. Tato směs je složena z více než deseti terpenických složek a hašišen v ní hraje klíčovou roli jako aroma aktivní komponenta i stabilizační prvek celé kompozice.

Vedle hašišenu směs obsahuje i další terpeny, které přispívají ke komplexnímu a vícevrstvému aromatickému profilu: β -karyofylen a humulen dodávají kořenité a dřevité tóny; α -pinen a β -pinen přinášejí svěžest s pryskyřičným a lesním charakterem; 3-karen a linalool přispívají k jemnosti, květinovým podtónům a lehce citrusovému nádechu; bisabolol přidává jemnost, lehce medovou sladkost a podporuje celkovou harmonii směsi.

Chromatogram této směsi je uveden v *Příloze 5*, kde lze pozorovat přítomnost jednotlivých terpenů, včetně hašišenu, v definovaném poměru. Všechny složky byly pečlivě vybírány s ohledem na vůni, stabilitu a synergii v rámci finálního produktu.

Měření bylo provedeno pomocí GC-MS na koloně typu LN-5 Sil MS o délce 30 metrů, vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmové vrstvy 0,25 μ m. Jako nosný plyn byl použit helium v režimu řízení lineární rychlosti (30,0 cm/s). Teplota injektoru byla nastavena na 200 °C, teplota pece byla inicializována na 40 °C (udržena po dobu 3 minut), poté byla zvyšována rychlostí 2 °C/min až na 250 °C. Celková doba analýzy činila 108 minut.

Injekce byla prováděna v režimu split s poměrem dělení 10:1. Ionizační zdroj a rozhraní byly nastaveny na 200 °C, hmotnostní spektrometr pracoval v režimu skenování v rozsahu m/z 35–400, s nastaveným solvent cut-off časem 5,4 minuty.

Je důležité zmínit, že současným trendem v oblasti aromatických produktů je vytváření neobvyklých, autentických a přirozeně působících vůní, které evokují konkrétní rostlinné nebo přírodní zdroje – přičemž právě kompozice inspirované konopím a hašišem patří mezi stále oblíbenější. Takové směsi oslovují nejen uživatele vaporizérů, ale i tvůrce přírodních parfémů, výrobců interiérových vůní či aromaterapeutických produktů.

Vývoj těchto formulací je však mimořádně složitý, a to nejen kvůli potřebě přesně vyvážené kombinace jednotlivých terpenů z hlediska jejich sensorických vlastností a těkavosti, ale také kvůli komplexnímu vlivu matrice. V tomto kontextu je třeba chápat matici nejen jako součet aromatických složek, ale jako celkové složení směsi, tedy včetně nosičů, rozpouštědel, stabilizačních látek a dalších příměsí, které zásadním způsobem ovlivňují jak vnímání vůně, tak uvolňování jednotlivých složek v čase. Matrice moduluje volatilní profil směsi, dynamiku uvolňování a dokonce i synergii či potlačování jednotlivých aromatických tónů. I drobné změny v poměru složek nebo způsobu míchání mohou vést k výrazně odlišnému sensorickému výsledku.

Z těchto důvodů je vývoj takových směsí náročnou kombinací chemického know-how, sensorické zkušenosti a praktického testování. Hašišen se v tomto ohledu ukázal jako velmi cenný prvek, který nejen podporuje věrohodnost konopného aromatického profilu, ale zároveň přispívá ke stabilitě a celkové vyváženosti finální směsi.

Závěr

Tato diplomová práce se zaměřila na syntézu vybraných rostlinných terpenů se zvláštním důrazem na hašišen a jeho následnou charakterizaci pomocí analytických metod. V teoretické části byla podrobně popsána struktura a vlastnosti hlavních terpenů obsažených v konopí, stejně jako současné poznatky o jejich biologické aktivitě, možnostech syntézy a využití v různých odvětvích.

Experimentální část se zabývala syntézou hašišenu z myrcenu metodou fotocyklizace za použití UV záření. Byly optimalizovány reakční podmínky a následně proběhla identifikace a kvantifikace produktu pomocí plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Výsledky prokázaly, že zvolená metoda je vhodná pro laboratorní syntézu hašišenu a že získané vzorky lze s úspěchem charakterizovat pomocí moderních analytických nástrojů. Praktická část práce rovněž potvrdila průmyslový potenciál hašišenu v oblasti tvorby aromatických směsí.

Součástí práce bylo také sledování stability hašišenu v čase. Ukázalo se, že i při chlazeném skladování dochází k jeho postupné degradaci, přičemž hlavní příčinou je pravděpodobně přítomnost vinylové skupiny ve struktuře molekuly, která je náchylná k oxidaci a dalším degradačním procesům. Na základě těchto poznatků je zřejmé, že pro zachování analytické přesnosti je vhodné analyzovat vzorky bezprostředně po syntéze nebo zvolit vhodnější podmínky pro jejich dlouhodobé uchovávání.

Výsledky této práce přispívají k hlubšímu pochopení chemického chování terpenů, možností syntézy a stability, a zároveň otevírají prostor pro další výzkum v oblasti jejich biologické aktivity a praktického využití, například ve farmacii, kosmetice či v oblasti přírodních konzervantů. Získané poznatky mohou být využity nejen při laboratorní přípravě těchto látek, ale i při návrhu inovativních průmyslových produktů v oblasti vaporizace, parfumerie a aromaterapie.

Zdroje

- [1] LIU, Robert S. H. a George S. HAMMOND. Photosensitized internal addition of dienes to olefins. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1967, **89**(19), 4936–4944. ISSN 0002-7863, 1520-5126. Dostupné z: doi:10.1021/ja00995a019
- [2] BORILLE, Bruna Tassi, Marcelo Caetano Alexandre MARCELO, Rafael Scorsatto ORTIZ, Kristiane De Cássia MARIOTTI, Marco Flôres FERRÃO a Renata Pereira LIMBERGER. Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2017, **173**, 318–323. ISSN 13861425. Dostupné z: doi:10.1016/j.saa.2016.09.040
- [3] MARTÍNKOVÁ, Jiřina. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů. 2.*, zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-247-4157-4.
- [4] MIOVSKÝ, Michal. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Praha: Grada Publishing as., 2018. ISBN 978-80-247-6765-9.
- [5] RUFINO, Ana T., Madalena RIBEIRO, Fernando JUDAS, Lígia SALGUEIRO, Maria C. LOPES, Carlos CAVALEIRO a Alexandrina F. MENDES. Anti-inflammatory and Chondroprotective Activity of (+)- α -Pinene: Structural and Enantiomeric Selectivity. *Journal of Natural Products* [online]. 2014, **77**(2), 264–269. ISSN 0163-3864, 1520-6025. Dostupné z: doi:10.1021/np400828x
- [6] ARISTATILE, Balakrishnan, Khalid S. AL-NUMAIR, Abdullah H. AL-ASSAF a Kodukkur Viswanathan PUGALENDI. Pharmacological effect of carvacrol on d-galactosamine-induced mitochondrial enzymes and DNA damage by single-cell gel electrophoresis. *Journal of Natural Medicines* [online]. 2011, **65**(3–4), 568–577. ISSN 1340-3443, 1861-0293. Dostupné z: doi:10.1007/s11418-011-0544-8
- [7] BILBREY, Joshua A., Yuma T. ORTIZ, Jasmine S. FELIX, Lance R. MCMAHON a Jenny L. WILKERSON. Evaluation of the terpenes β -caryophyllene, α -terpineol, and γ -terpinene in the mouse chronic constriction injury model of neuropathic pain: possible cannabinoid receptor involvement. *Psychopharmacology* [online]. 2022, **239**(5), 1475–1486. ISSN 0033-3158, 1432-2072. Dostupné z: doi:10.1007/s00213-021-06031-2
- [8] TROMBETTA, Domenico, Francesco CASTELLI, Maria Grazia SARPIETRO, Vincenza VENUTI, Mariateresa CRISTANI, Claudia DANIELE, Antonella SAIJA, Gabriela MAZZANTI a Giuseppe BISIGNANO. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2005, **49**(6), 2474–2478. ISSN 0066-4804, 1098-6596. Dostupné z: doi:10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005
- [9] ASTANI, Akram a Paul SCHNITZLER. Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro. *Iranian Journal of Microbiology*. 2014, **6**(3), 149–155. ISSN 2008-3289.

- [10] RUSSO, Ethan B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2011, **163**(7), 1344–1364. ISSN 0007-1188, 1476-5381. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x
- [11] CHANDRA, Suman, Hemant LATA a Mahmoud A. ELSOHLI. *Cannabis sativa L.-botany and biotechnology*. Cham: Springer, 2017. ISBN 978-3-319-54564-6.
- [12] HUFFORD, David J. Evaluating Complementary and Alternative Medicine: The Limits of Science and of Scientists. *Journal of Law, Medicine & Ethics* [online]. 2003, **31**(2), 198–212. ISSN 1073-1105, 1748-720X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1748-720X.2003.tb00081.x
- [13] RAVICHANDRAN, Chandrakala, Prarabdh C. BADGUJAR, Promita GUNDEV a Ashutosh UPADHYAY. Review of toxicological assessment of d-limonene, a food and cosmetics additive. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2018, **120**, 668–680. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2018.07.052
- [14] ARAÚJO-FILHO, Heitor Gomes De, Jucilene F. DOS SANTOS, Mikaella T. B. CARVALHO, Laurent PICOT, Ingrid FRUITIER-ARNAUDIN, Hugo GROULT, Lucindo J. QUINTANS-JÚNIOR a Jullyana S.S. QUINTANS. Anticancer activity of limonene: A systematic review of target signaling pathways. *Phytotherapy Research* [online]. 2021, **35**(9), 4957–4970. ISSN 0951-418X, 1099-1573. Dostupné z: doi:10.1002/ptr.7125
- [15] SCUTERI, Damiana, Laura ROMBOLÀ, Michele CRUDO, Chizuko WATANABE, Hirokazu MIZOGUCHI, Shinobu SAKURADA, Kengo HAMAMURA, Tsukasa SAKURADA, Paolo TONIN, Maria Tiziana CORASANITI a Giacinto BAGETTA. Preclinical Characterization of Antinociceptive Effect of Bergamot Essential Oil and of Its Fractions for Rational Translation in Complementary Therapy. *Pharmaceutics* [online]. 2022, **14**(2), 312. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics14020312
- [16] MORAES, Thiago M., Hélio KUSHIMA, Fábio C. MOLEIRO, Raquel C. SANTOS, Lúcia R. MACHADO ROCHA, Márcia O. MARQUES, Wagner VILEGAS a Clélia A. HIRUMA-LIMA. Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chemico-Biological Interactions* [online]. 2009, **180**(3), 499–505. ISSN 00092797. Dostupné z: doi:10.1016/j.cbi.2009.04.006
- [17] DE SOUZA, Matheus Chiaradia, Ana Júlia VIEIRA, Fernando Pereira BESERRA, Cláudia Helena PELLIZZON, Rafael Henrique NÓBREGA a Ariane Leite ROZZA. Gastroprotective effect of limonene in rats: Influence on oxidative stress, inflammation and gene expression. *Phytomedicine* [online]. 2019, **53**, 37–42. ISSN 09447113. Dostupné z: doi:10.1016/j.phymed.2018.09.027
- [18] SHAH, Bhavini B. a Anita A. MEHTA. In vitro evaluation of antioxidant activity of D-Limonene. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. 2018, **4**(6), 883–887. ISSN 24552674. Dostupné z: doi:10.31024/ajpp.2018.4.6.25

- [19] YU, Lihua, Jing YAN a Zhiguang SUN. D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of iNOS, COX-2, PGE2 and ERK signaling pathways. *Molecular Medicine Reports* [online]. 2017, **15**(4), 2339–2346. ISSN 1791-2997, 1791-3004. Dostupné z: doi:10.3892/mmr.2017.6241
- [20] EDDIN, Lujain Bader, Niraj Kumar JHA, M. F. Nagoor MEERAN, Kavindra Kumar KESARI, Rami BEIRAM a Shreesh OJHA. Neuroprotective Potential of Limonene and Limonene Containing Natural Products. *Molecules* [online]. 2021, **26**(15), 4535. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26154535
- [21] CIRIMINNA, Rosaria, Monica LOMELI-RODRIGUEZ, Piera DEMMA CARÀ, Jose A. LOPEZ-SANCHEZ a Mario PAGLIARO. Limonene: a versatile chemical of the bioeconomy. *Chem. Commun.* [online]. 2014, **50**(97), 15288–15296. ISSN 1359-7345, 1364-548X. Dostupné z: doi:10.1039/C4CC06147K
- [22] ERASTO, Paul a Alvaro M. VILJOEN. Limonene - a Review: Biosynthetic, Ecological and Pharmacological Relevance. *Natural Product Communications* [online]. 2008, **3**(7), 1934578X0800300728. ISSN 1934-578X, 1555-9475. Dostupné z: doi:10.1177/1934578X0800300728
- [23] BEHR, Arno a Leif JOHNEN. Myrcene as a Natural Base Chemical in Sustainable Chemistry: A Critical Review. *ChemSusChem* [online]. 2009, **2**(12), 1072–1095. ISSN 1864-5631, 1864-564X. Dostupné z: doi:10.1002/cssc.200900186
- [24] MITZNER, B. M., E. T. THEIMER, L. STEINBACH a J. WOLT. α -Myrcene (2-Methyl-6-methylene-1,7-octadiene). *The Journal of Organic Chemistry* [online]. 1965, **30**(2), 646–648. ISSN 0022-3263, 1520-6904. Dostupné z: doi:10.1021/jo01013a505
- [25] MOLINARI, Aurora, Claudia OJEDA, Alfonso OLIVA, José M. MIGUEL DEL CORRAL, M. Angeles CASTRO, Pablo A. GARCÍA, Carmen CUEVAS a Arturo SAN FELICIANO. Synthesis, characterisation, and antineoplastic cytotoxicity of hybrid naphthohydroquinone–nucleic base mimic derivatives. *Medicinal Chemistry Research* [online]. 2009, **18**(1), 59–69. ISSN 1054-2523, 1554-8120. Dostupné z: doi:10.1007/s00044-008-9108-1
- [26] SURENDRAN, Shelini, Fatimah QASSADI, Geyan SURENDRAN, Dash LILLEY a Michael HEINRICH. Myrcene—What Are the Potential Health Benefits of This Flavouring and Aroma Agent? *Frontiers in Nutrition* [online]. 2021, **8**, 699666. ISSN 2296-861X. Dostupné z: doi:10.3389/fnut.2021.699666
- [27] TYAGI, Vishal, Vijay Kumar SINGH, Pramod Kumar SHARMA a Veena SINGH. Essential oil-based nanostructures for inflammation and rheumatoid arthritis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2020, **60**, 101983. ISSN 17732247. Dostupné z: doi:10.1016/j.jddst.2020.101983
- [28] HWANG, Eunson, Hien T. T. NGO, Bom PARK, Seul-A SEO, Jung-Eun YANG a Tae-Hoo YI. Myrcene, an Aromatic Volatile Compound, Ameliorates Human Skin Extrinsic Aging via Regulation of MMPs Production. *The American Journal of*

- Chinese Medicine* [online]. 2017, **45**(05), 1113–1124. ISSN 0192-415X, 1793-6853. Dostupné z: doi:10.1142/S0192415X17500604
- [29] ZHOU, Cheng, Zhiyong WEI, Chenhao JIN, Yanshai WANG, Yang YU, Xuefei LENG a Yang LI. Fully biobased thermoplastic elastomers: Synthesis of highly branched linear comb poly(β -myrcene)-graft-poly(l-lactide) copolymers with tunable mechanical properties. *Polymer* [online]. 2018, **138**, 57–64. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2018.01.045
- [30] LI, Tao, Mingzu ZHANG, Jinlin HE a Peihong NI. Synthesis and Characterization of Graft Copolymers with Poly(ϵ -caprolactone) Side Chain Using Hydroxylated Poly(β -myrcene-co- α -methyl styrene). *Molecules* [online]. 2024, **29**(10), 2363. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules29102363
- [31] WINNACKER, Malte a Bernhard RIEGER. Recent Progress in Sustainable Polymers Obtained from Cyclic Terpenes: Synthesis, Properties, and Application Potential. *ChemSusChem* [online]. 2015, **8**(15), 2455–2471. ISSN 1864-5631, 1864-564X. Dostupné z: doi:10.1002/cssc.201500421
- [32] MITIĆ, Zorica S., Boris JOVANOVIĆ, Snežana Č. JOVANOVIĆ, Tatjana MIHAJLOV-KRSTEV, Zorica Z. STOJANOVIĆ-RADIĆ, Vladimir J. CVETKOVIĆ, Tatjana Lj. MITROVIĆ, Petar D. MARIN, Bojan K. ZLATKOVIĆ a Gordana S. STOJANOVIĆ. Comparative study of the essential oils of four Pinus species: Chemical composition, antimicrobial and insect larvicidal activity. *Industrial Crops and Products* [online]. 2018, **111**, 55–62. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2017.10.004
- [33] LEŠNIK, Samo, Veronika FURLAN a Urban BREN. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): extraction techniques, analytical methods and health-promoting biological effects. *Phytochemistry Reviews* [online]. 2021, **20**(6), 1273–1328. ISSN 1568-7767, 1572-980X. Dostupné z: doi:10.1007/s11101-021-09745-5
- [34] PERVEEN, Kahkashan, Najat A. BOKHARI, Sarah A. I. AL-RASHID a Latifah A. AL-HUMAID. Chemical Composition of Essential Oil of *Ocimum basilicum* L. and Its Potential in Managing the Alternaria Rot of Tomato. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* [online]. 2020, **23**(6), 1428–1437. ISSN 0972-060X, 0976-5026. Dostupné z: doi:10.1080/0972060X.2020.1868351
- [35] GUINÉ, Raquel P. F. a José A. A. M. CASTRO. Polymerization of β -pinene with ethylaluminum dichloride ($C_2H_5AlCl_2$). *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2001, **82**(10), 2558–2565. ISSN 0021-8995, 1097-4628. Dostupné z: doi:10.1002/app.2107
- [36] SALEHI, Bahare, Shashi UPADHYAY, Ilkay ERDOGAN ORHAN, Arun KUMAR JUGRAN, Sumali L.D. JAYAWEERA, Daniel A. DIAS, Farukh SHAROPOV, Yasaman TAHERI, Natália MARTINS, Navid BAGHALPOUR, William C. CHO a Javad SHARIFI-RAD. Therapeutic Potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of Nature. *Biomolecules* [online]. 2019, **9**(11), 738. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom9110738

- [37] SILVA, Ana Cristina Rivas Da, Paula Monteiro LOPES, Mariana Maria Barros De AZEVEDO, Danielle Cristina Machado COSTA, Celuta Sales ALVIANO a Daniela Sales ALVIANO. Biological Activities of α -Pinene and β -Pinene Enantiomers. *Molecules* [online]. 2012, **17**(6), 6305–6316. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules17066305
- [38] ROMÁN-AGUIRRE, M., L. De La TORRE-SÁENZ, Wilber Antúnez FLORES, A. ROBAU-SÁNCHEZ a A. Aguilar ELGUÉZABAL. Synthesis of terpineol from α -pinene by homogeneous acid catalysis. *Catalysis Today* [online]. 2005, **107–108**, 310–314. ISSN 09205861. Dostupné z: doi:10.1016/j.cattod.2005.07.061
- [39] SÁNCHEZ-VELANDIA, Julián E., Estefany PÁJARO, Aída L. VILLA a Fernando MARTÍNEZ-O. Selective synthesis of camphene from isomerization of α - and β -pinene over heterogeneous catalysts. *Microporous and Mesoporous Materials* [online]. 2021, **324**, 111273. ISSN 13871811. Dostupné z: doi:10.1016/j.micromeso.2021.111273
- [40] BORILLE, Bruna Tassi, Marcelo Caetano Alexandre MARCELO, Rafael Scorsatto ORTIZ, Kristiane De Cássia MARIOTTI, Marco Flôres FERRÃO a Renata Pereira LIMBERGER. Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2017, **173**, 318–323. ISSN 13861425. Dostupné z: doi:10.1016/j.saa.2016.09.040
- [41] LIU, Robert S. H. a George S. HAMMOND. Photosensitized internal addition of dienes to olefins. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1967, **89**(19), 4936–4944. ISSN 0002-7863, 1520-5126. Dostupné z: doi:10.1021/ja00995a019
- [42] SKÖLD, Maria, Ann-Therese KARLBERG, Mihaly MATURA a Anna BÖRJE. The fragrance chemical β -caryophyllene—air oxidation and skin sensitization. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2006, **44**(4), 538–545. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2005.08.028
- [43] OPDYKE, D.L.J. Monographs on fragrance raw materials. *Food and Cosmetics Toxicology* [online]. 1973, **11**(6), 1059–1060. ISSN 00156264. Dostupné z: doi:10.1016/0015-6264(73)90250-2
- [44] HERNANDEZ-LEON, Alberto, María Eva GONZÁLEZ-TRUJANO, Fernando NARVÁEZ-GONZÁLEZ, Gimena PÉREZ-ORTEGA, Fausto RIVERO-CRUZ a María Isabel AGUILAR. Role of β -Caryophyllene in the Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential Oil. *Molecules* [online]. 2020, **25**(3), 675. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25030675
- [45] SOUSA, Laís Ferraz Brito, Hellen Braga Martins OLIVEIRA, Nathan DAS NEVES SELIS, Lorena Lobo Brito MORBECK, Talita Costa SANTOS, Lucas Santana Coelho DA SILVA, Jully Chayra Santos VIANA, Mariane Mares REIS, Beatriz Almeida SAMPAIO, Guilherme Barreto CAMPOS, Jorge TIMENETSKY, Regiane YATSUDA a Lucas Miranda MARQUES. β -caryophyllene and docosahexaenoic acid, isolated or associated, have potential antinociceptive and anti-inflammatory effects in vitro and in vivo. *Scientific Reports* [online]. 2022, **12**(1), 19199. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-022-23842-1

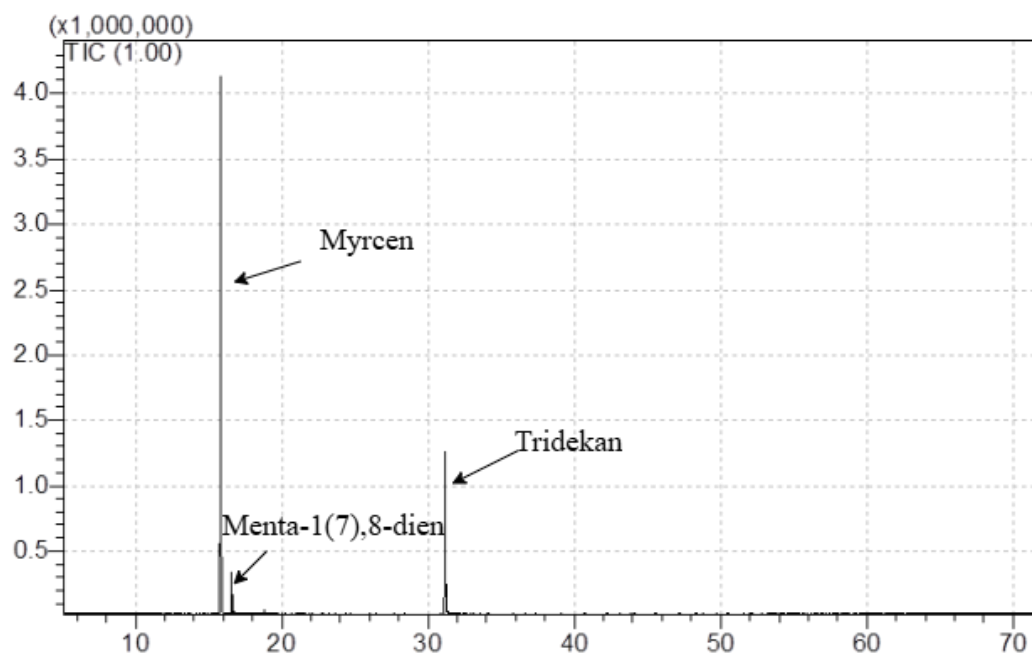
- [46] KŘÍŽOVÁ, Eva. *Postavení komplementární a alternativní medicíny v České republice*. Praha: Národohospodářský ústav Josefa Hlávky, 2011. ISBN 978-80-86729-65-7.
- [47] JONAS, W. B. Policy, the Public, and Priorities in Alternative Medicine Research. *The ANNALS of the American Academy of Political and Social Science* [online]. 2002, **583**(1), 29–43. ISSN 0002-7162. Dostupné z: doi:10.1177/0002716202583001003
- [48] SMALL, Ernest a Steve G. U. NARAINÉ. Size matters: evolution of large drug-secreting resin glands in elite pharmaceutical strains of *Cannabis sativa* (marijuana). *Genetic Resources and Crop Evolution* [online]. 2016, **63**(2), 349–359. ISSN 0925-9864, 1573-5109. Dostupné z: doi:10.1007/s10722-015-0254-2
- [49] SEFIDKON, Fatemeh, Khadijeh ABBASI, Ziba JAMZAD a Shahla AHMADI. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food Chemistry* [online]. 2007, **100**(3), 1054–1058. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2005.11.016
- [50] RALUY, R. Gemma, Rebecca SCHWANTES, Vicente J. SUBIELA, Baltasar PEÑATE, Gustavo MELIÁN a Juana Rosa BETANCORT. Operational experience of a solar membrane distillation demonstration plant in Pozo Izquierdo-Gran Canaria Island (Spain). *Desalination* [online]. 2012, **290**, 1–13. ISSN 00119164. Dostupné z: doi:10.1016/j.desal.2012.01.003
- [51] CHEMAT, F. a C. BOUTEKEDJIRET. Extraction // Steam Distillation☆. In: *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* [online]. B.m.: Elsevier, 2015 [vid. 2025-02-24], s. B9780124095472115574. ISBN 978-0-12-409547-2. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.11557-4
- [52] MARSILI, Ray. *Techniques for analyzing food aroma*. Boca Raton: CRC Press, 2020. ISBN 978-1-003-06757-3.
- [53] RAUTENBACH, R. a B. ARZT. The development of high-performance distillation plants. *Desalination* [online]. 1985, **56**, 261–275. ISSN 00119164. Dostupné z: doi:10.1016/0011-9164(85)85030-X
- [54] AHMED, Hiwa M. Ethnomedicinal, Phytochemical and Pharmacological Investigations of *Perilla frutescens* (L.) Britt. *Molecules* [online]. 2018, **24**(1), 102. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24010102
- [55] ZHAO, Qing a Xiao-Ya CHEN. Development: A new function of plant trichomes. *Nature Plants* [online]. 2016, **2**(7), 16096. ISSN 2055-0278. Dostupné z: doi:10.1038/nplants.2016.96
- [56] HANUŠ, Lumír Ondřej, Stefan Martin MEYER, Eduardo MUÑOZ, Orazio TAGLIALATELA-SCAFATI a Giovanni APPENDINO. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Natural Product Reports* [online]. 2016, **33**(12), 1357–1392. ISSN 0265-0568, 1460-4752. Dostupné z: doi:10.1039/C6NP00074F

- [57] MADHAVAN, D a K PITCHUMANI. Efficient triplet–triplet energy transfer using clay-bound ionic sensitizers. *Tetrahedron* [online]. 2002, **58**(44), 9041–9044. ISSN 00404020. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4020(02)01123-7
- [58] ZHAO, Jianzhang, Wanhua WU, Jifu SUN a Song GUO. Triplet photosensitizers: from molecular design to applications. *Chemical Society Reviews* [online]. 2013, **42**(12), 5323. ISSN 0306-0012, 1460-4744. Dostupné z: doi:10.1039/c3cs35531d
- [59] KACZOR, A., I. REVA, D. WARSZYCKI a R. FAUSTO. UV-induced cyclization in myrcene isolated in rigid argon environment: FT-IR and DFT study. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* [online]. 2011, **222**(1), 1–9. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2011.02.007
- [60] KLEPAL, Jaroslav a Tereza STÖCKELOVÁ. Exploring Biomedicalization Through Complementary and Alternative Medicine in a Postsocialist Context. *Medical Anthropology* [online]. 2018, **37**(5), 412–425. ISSN 0145-9740, 1545-5882. Dostupné z: doi:10.1080/01459740.2018.1473395
- [61] GROTHENHERMEN, Franjo. *Konopí jako lék: praktický rádce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně*. Vyd. 1. Olomouc: Fontána, 2009. ISBN 978-80-7336-552-3.
- [62] MARCHINI, Marie, Céline CHARVOZ, Laurence DUJOURDY, Nicolas BALDOVINI a Jean-Jacques FILIPPI. Multidimensional analysis of cannabis volatile constituents: Identification of 5,5-dimethyl-1-vinylbicyclo[2.1.1]hexane as a volatile marker of hashish, the resin of *Cannabis sativa* L. *Journal of Chromatography A* [online]. 2014, **1370**, 200–215. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2014.10.045
- [63] CROWLEY, K.J. Photoisomerizations—VI. *Tetrahedron* [online]. 1965, **21**(5), 1001–1014. ISSN 00404020. Dostupné z: doi:10.1016/0040-4020(65)80039-4
- [64] DAUBEN, William G., Robert L. CARGILL, Robert M. COATES a Jack SALTIEL. The Direct and Sensitized Irradiation of Acyclic Dienes¹⁻³. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1966, **88**(12), 2742–2745. ISSN 0002-7863, 1520-5126. Dostupné z: doi:10.1021/ja00964a023
- [65] CID GOMES, Leandro, Anup RANA, Mathias BERGLUND, Per WIKLUND a Henrik OTTOSSON. Light-driven (cross-)dimerization of terpenes as a route to renewable C₁₅–C₃₀ crudes for fuel and lubricant oil applications. *Sustainable Energy & Fuels* [online]. 2023, **7**(3), 868–882. ISSN 2398-4902. Dostupné z: doi:10.1039/D2SE01370C
- [66] STAPLES, Orion, Juan H. LEAL, Patrick A. CHERRY, Charles S. MCENALLY, Lisa D. PFEFFERLE, Troy A. SEMELSBERGER, Andrew D. SUTTON a Cameron M. MOORE. Camphorane as a Renewable Diesel Blendstock Produced by Cyclodimerization of Myrcene. *Energy & Fuels* [online]. 2019, **33**(10), 9949–9955. ISSN 0887-0624, 1520-5029. Dostupné z: doi:10.1021/acs.energyfuels.9b02557
- [67] KACZOR, A., I. REVA, D. WARSZYCKI a R. FAUSTO. UV-induced cyclization in myrcene isolated in rigid argon environment: FT-IR and DFT study. *Journal of*

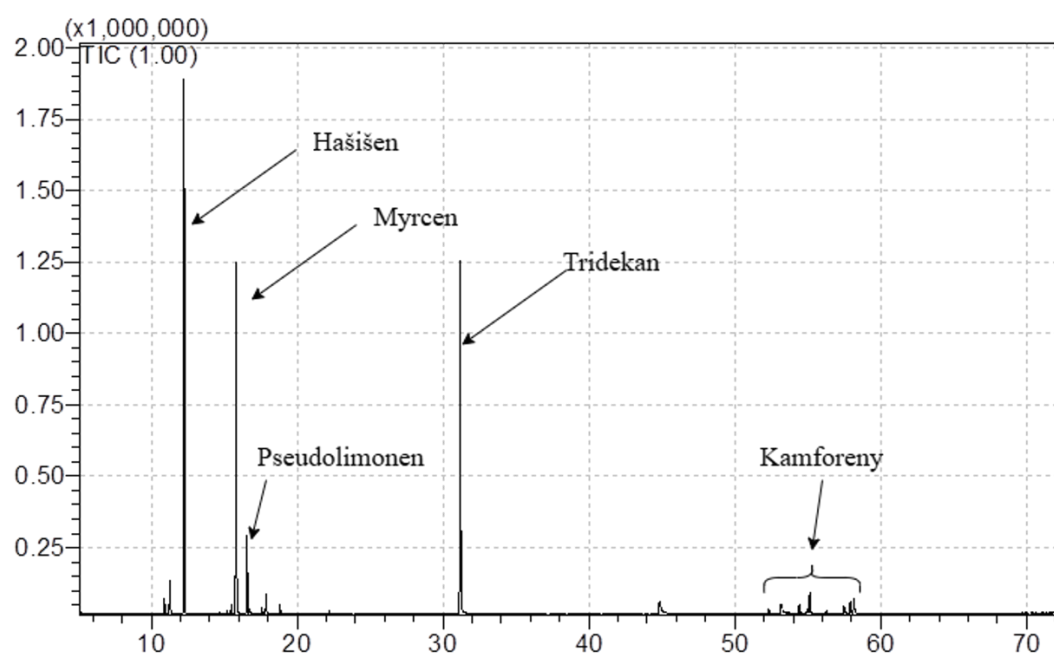
- Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* [online]. 2011, **222**(1), 1–9. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2011.02.007
- [68] HU, Jin-xiu, Min-hua AI, Xian-long LIU, Xiao-lei GUO, Cheng-xiang SHI, Kang XUE, Xiang-wen ZHANG, Li WANG, Ji-Jun ZOU a Lun PAN. [2+2] and [2+1] cycloaddition of myrcene for synthesis of highly strained bio-fuels with high density and high impulse. *Energetic Materials Frontiers* [online]. 2024, S2666647224000861. ISSN 26666472. Dostupné z: doi:10.1016/j.enmf.2024.11.006
- [69] ARMENTA-DEU, C. Water distillation: a prototype to determine flow rate gains temperature and salt concentration changes in pressurised system. *Renewable Energy* [online]. 2004, **29**(9), 1557–1568. ISSN 09601481. Dostupné z: doi:10.1016/j.renene.2003.12.022
- [70] SAIDUR, R., E.T. ELCEVVADI, S. MEKHILEF, A. SAFARI a H.A. MOHAMMED. An overview of different distillation methods for small scale applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [online]. 2011, **15**(9), 4756–4764. ISSN 13640321. Dostupné z: doi:10.1016/j.rser.2011.07.077
- [71] DRIOLI, Enrico, Aamer ALI a Francesca MACEDONIO. Membrane distillation: Recent developments and perspectives. *Desalination* [online]. 2015, **356**, 56–84. ISSN 00119164. Dostupné z: doi:10.1016/j.desal.2014.10.028
- [72] DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING, EGE UNIVERSITY OF IZMIR, TURKEY, Semih ÖTLES a Canan KARTAL. Solid-Phase Extraction (SPE): Principles and Applications in Food Samples. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* [online]. 2016, **15**(1), 5–15. ISSN 16440730, 18989594. Dostupné z: doi:10.17306/J.AFS.2016.1.1
- [73] KOLOMNIKOV, Ivan G., Alexander M. EFREMOV, Tatyana I. TIKHOMIROVA, Nadezhda M. SOROKINA a Yury A. ZOLOTOV. Early stages in the history of gas chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2018, **1537**, 109–117. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2018.01.006
- [74] POLLASTRO, Federica, Luciano DE PETROCELLIS, Aniello SCHIANO-MORIELLO, Giuseppina CHIANESE, Heino HEYMAN, Giovanni APPENDINO a Orazio TAGLIALATELA-SCAFATI. Amorfrutin-type phytocannabinoids from *Helichrysum umbraculigerum*. *Fitoterapia* [online]. 2017, **123**, 13–17. ISSN 0367326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.fitote.2017.09.010
- [75] GALE, Nicola a Jean V. MCHALE, ed. *Routledge handbook of complementary and alternative medicine: perspectives from social science and law* [online]. London New York: Routledge, 2015. Routledge handbooks. ISBN 978-1-138-50343-4. Dostupné z: doi:10.4324/9780203578575
- [76] BIZZO, Humberto R., Nathália S. BRILHANTE, Yada NOLVACHAI a Philip J. MARRIOTT. Use and abuse of retention indices in gas chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2023, **1708**, 464376. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2023.464376

- [77] ZELLNER, Barbara d'Acampora, Carlo BICCHI, Paola DUGO, Patrizia RUBIOLO, Giovanni DUGO a Luigi MONDELLO. Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2008, **23**(5), 297–314. ISSN 0882-5734, 1099-1026. Dostupné z: doi:10.1002/ffj.1887
- [78] BATTALOGU, Rifat. Calculation of retention indices of essential oils with the aid of the Van den Dool and Kratz equation and Bézier curves. *Mathematical Methods in the Applied Sciences* [online]. 2024, **47**(5), 3219–3229. ISSN 0170-4214, 1099-1476. Dostupné z: doi:10.1002/mma.7784
- [79] VAN DEN DOOL, H. a P. DEC. KRATZ. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 1963, **11**, 463–471. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(01)80947-X
- [80] TENOVER, F.C. Antibiotic Susceptibility Testing. In: *Encyclopedia of Microbiology* [online]. B.m.: Elsevier, 2009 [vid. 2025-02-25], s. 67–77. ISBN 978-0-12-373944-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012373944-5.00239-X
- [81] RIVERA, Alba, Belén VIÑADO, Natividad BENITO, Fernando DOCOBO-PÉREZ, Felipe FERNÁNDEZ-CUENCA, Javier FERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, Jesús GUINEA, Antonio LÓPEZ-NAVAS, Miguel Ángel MORENO, María Nieves LARROSA, Antonio OLIVER a Ferran NAVARRO. Recommendations of the Spanish Antibiogram Committee (COESANT) for in vitro susceptibility testing of antimicrobial agents by disk diffusion. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica (English ed.)* [online]. 2023, **41**(9), 571–576. ISSN 2529993X. Dostupné z: doi:10.1016/j.eimce.2022.12.009
- [82] MATUSCHEK, E., D.F.J. BROWN a G. KAHLMETER. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. 2014, **20**(4), O255–O266. ISSN 1198743X. Dostupné z: doi:10.1111/1469-0691.12373
- [83] DVOŘÁČEK, Vladimír. Světelné zdroje – vysokotlaké rtuťové výbojky, směšové výbojky. *Světlo*. 2008.

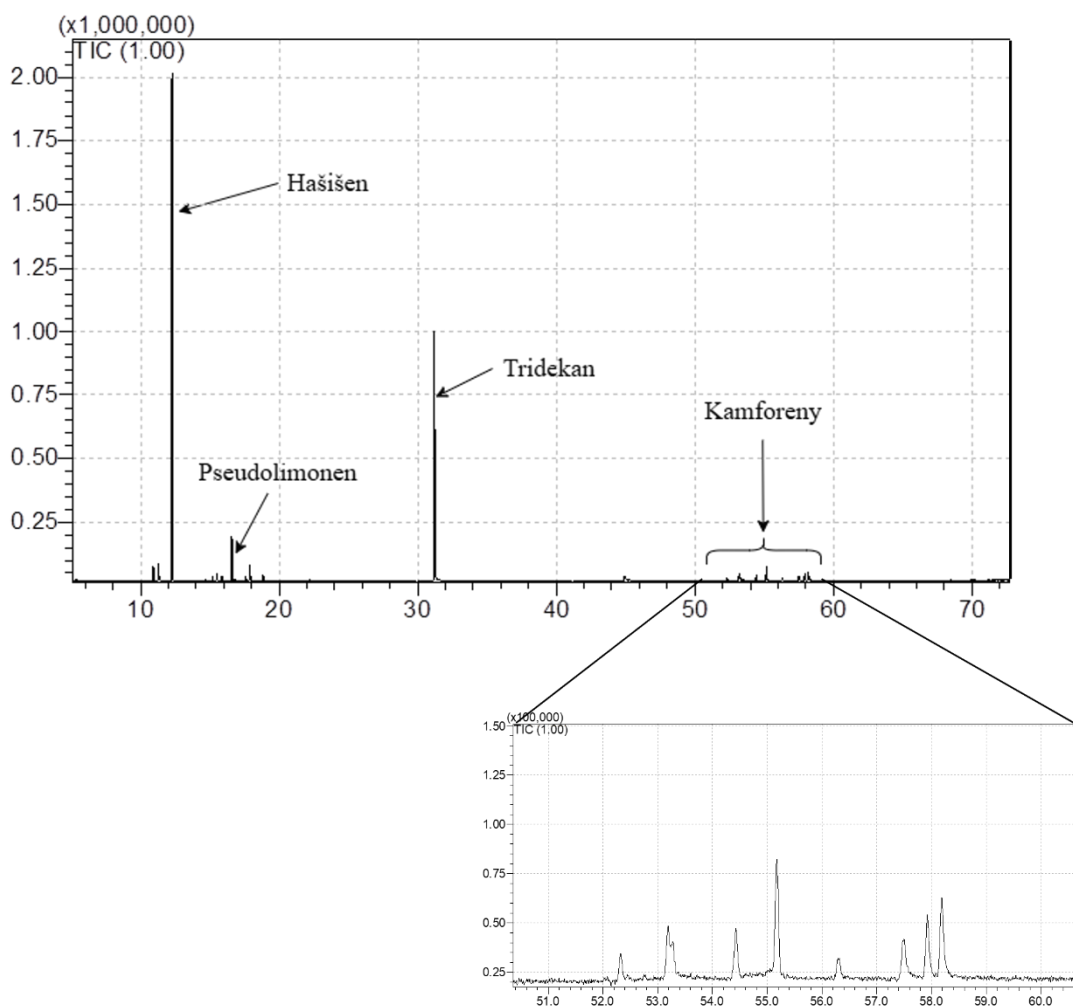
Přílohy



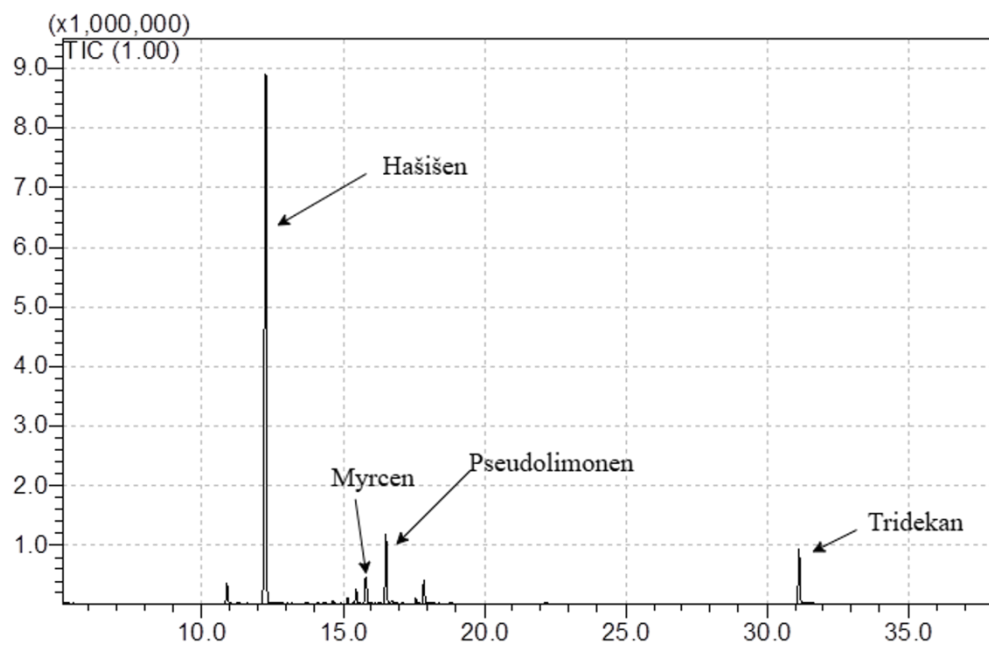
Příloha 1. GC-MS chromatogram výchozí reakční směsi.



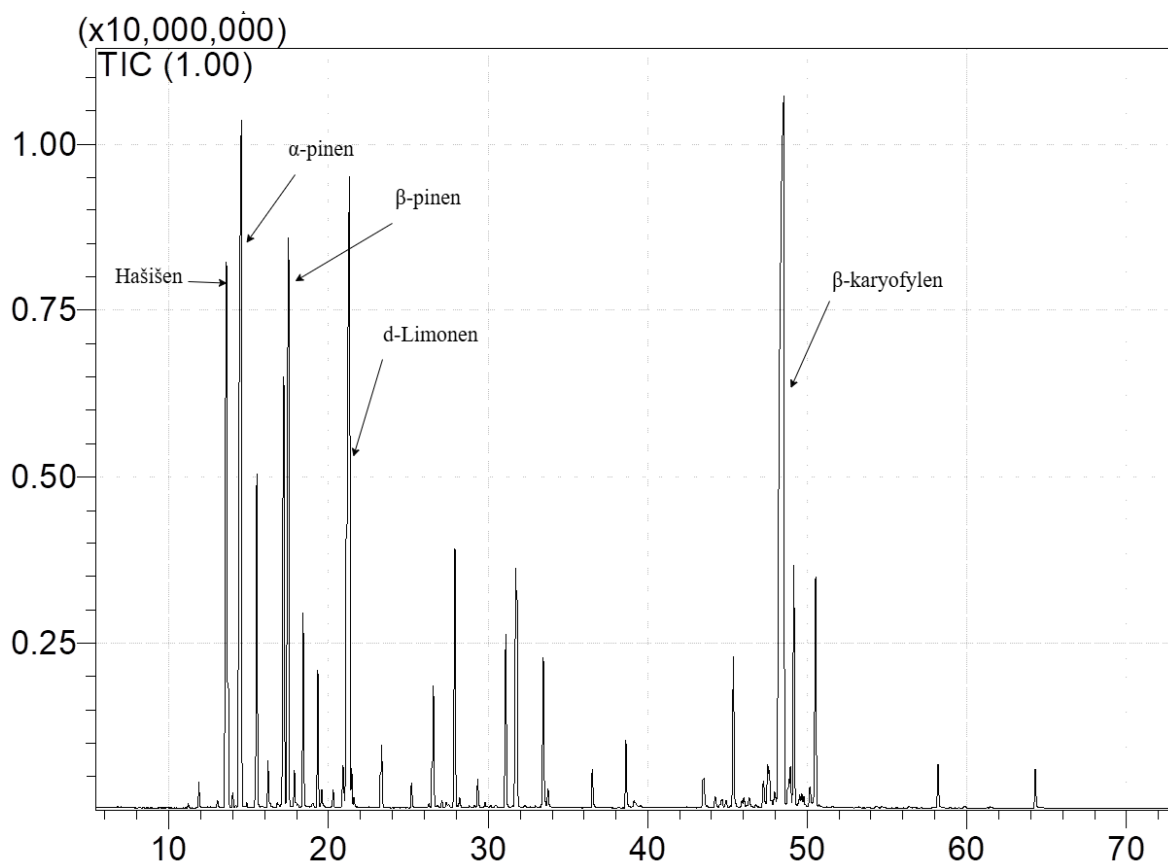
Příloha 2. GC-MS chromatogram reakční směsi po 33 hodinách reakce.



Příloha 3. GC-MS chromatogram reakční směsi po 72 hodinách reakce.



Příloha 4. GC-MS chromatogram destilační frakce 147-158 °C.



Příloha 5. GC-MS chromatogram terpenové směsi "Moroccan Hash".