

I. Závěr

Z dostupných informačních zdrojů byl vypracován přehled obsahových látek rostliny *Cannabis sativa* L. se zaměřením na jejich biologickou aktivitu. Dále bylo zpracováno téma biotechnologické kultivace tkáňových kultur a aplikace moderních instrumentálních analytických metod v rámci rozvíjející se disciplíny metabolomiky.

Na základě NMR a MS výsledků nebyly detekovány kanabinoidy v kontrolních nebo elicitovaných suspenzních kulturách *Cannabis sativa* L.. Také ostatní sekundární metabolity nebyly zaznamenány pomocí NMR. Pro úplné vyhodnocení ostatních sekundárních metabolitů, pokud byly přítomny, by bylo nezbytné využít citlivější analytické metody a jejich kombinace. Lze shrnout, že v suspenzních, kalusových a embryonálních kulturách *Cannabis sativa* L. nebyla s využitím elicitace pektinem nebo jasmonovou kyselinou stimulována biosyntéza kanabinoidů.

Na základě kvantifikace produkovaných sloučenin a sestrojených růstových křivek byly vyhodnoceny metabolity jednotlivých růstových fází. S využitím statistické metody PCA byly vyhodnoceny důsledky elicitací s návazností na identifikaci případně objasnění struktury metabolitů. Bylo identifikováno maximum možných signálů ^1H NMR spekter a objasněny struktury u neznámých sloučenin s využitím 2D NMR.

Výsledky získané z NMR měření a PCA analýz předkládají ucelený obraz primárního metabolismu kultur, který však pravděpodobně nesměruje v biosyntetických drahách ke složitějším strukturám sekundárních metabolitů. Jednoznačně byl elitací aktivován metabolismus kyseliny šikimové vedoucí k aromatickým stavebním kamenům, který ovšem není součástí metabolické dráhy kanabinoidů. Na druhou stranu detekce signálů typických pro terpenové metabolity v chloroformové frakci dokládá aktivitu deoxyxylulózové a mevalonátové metabolické cesty vedoucí k C_5 isoprenovým jednotkám. Jednou z důležitých podmínek pro produkci sekundárních metabolitů je ovšem také kompartmentizace v rostlině, která může být u nediferencovaných buněčných kultur překážkou v úspěšnosti experimentu. V případě konopí je důležitou podmínkou tvorba specializovaných žlaznatých trichomů, ve kterých dochází k odblokování nezbytných enzymových systémů biosyntézy. Takto lze předpokládat, že i při dostatečném zásobení stavebními kameny nezbytnými pro kanabinoidní strukturu, není aktivován již brzký enzymový systém biosyntézy kanabinoidů představovaný olivetol syntázou a nedochází k tvorbě prekurzoru olivetolové kyseliny. Ve stádiu výzkumů zůstává také charakterizace dalších izoform polyketidsyntáz, které mohou zajišťovat jak biosyntézu kanabinoidů, tak přesmykovat metabolickou dráhu na jiné sekundární

metabolity např. flavonoidy nebo stilbenoidy s využitím stavebních kamenů acetátového metabolismu ²⁵⁷).

Předloženou analýzou byl důkladně prozkoumán metabolismus suspenzních kultur a NMR záznamy budou sloužit pro další experimenty s daným biologickým materiálem. Nedílnou součástí bude dále porovnání s extrakty intaktních rostlin, které představují z hlediska NMR analýzy nesrovnatelně složitější systém, který bude však s využitím údajů uvedených v této práci jednodušeji interpretovatelný. Uvedená data jsou také nezbytná pro další experimenty molekulárně biologického zaměření, zejména v dalších výzkumech týkajících se brzkých stádií metabolické dráhy kanabinoidů, jmenovitě studia polyketid syntáz ²⁵⁸).