

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Stanovení omamných a psychotropních látek v netradičních
matricích

Lucie Podzimková

Bakalářská práce

2012

PROHLÁŠENÍ

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., autorský zákon, 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.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 17. 6. 2012

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lucie Podzimková**
Osobní číslo: **C09255**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Stanovení omamných a psychotropních látek v netradičních maticích**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Provedte literární rešerši zabývající se stanovením OPL. Zaměřte se na matrice jako vlasy, nehty apod.
2. Závěry kriticky zhodnoťte.
3. Výsledky zpracujte formou bakalářské práce.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Petra Bajerová, Ph.D.

Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **24. února 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 24. února 2012

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí bakalářské práce Ing. Petře Bajerové, Ph.D. a jejímu kolegovi Ing. Aleši Eisnerovi, Ph.D. za cenné a užitečné rady, připomínky, inspiraci a příjemné vedení.

ANOTACE

Cílem této práce je shrnout používané analytické metody při stanovení omamných a psychotropních látek v netradičních matricích. Uvedena je stručná charakteristika nejběžnějších zneužívaných látek a jejich vliv na lidský organismus. Netradičními matricemi jsou myšleny vlasy, nehty, sliny, mekonium, pot a mozek.

KLÍČOVÁ SLOVA

Stanovení, drogy, netradiční matrice, účinky, analytické metody

TITTLE

Determination of narcotic and psychotropic substances in non-traditional matrices

ANNOTATION

The aim of this work is summarize the analytical methods used in the determination of narcotic and psychotropic substances in non-traditional matrices. It is stated brief characteristic of the most common abused substances and their effects on the human organism. Non-traditional matrices are meant hair, fingernails, saliva, meconium, sweat and brain.

KEYWORDS

Determination, drugs, non-traditional matrices, effects, analytical methods

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	LEGISLATIVA.....	10
3	KLASIFIKACE OMAMNÝCH A PSYCHOTROPNÍCH LÁTEK.....	10
3.1	PSYCHOMIMETIKA.....	10
3.1.1	CNS stimulancia.....	10
3.1.1.1	<i>Amfetamin a metamfetamin</i>	10
3.1.1.2	<i>Extáze</i>	11
3.1.1.3	<i>Efedrin</i>	12
3.1.1.4	<i>Kokain</i>	13
3.1.2	Syntetické delirogeny.....	14
3.1.2.1	<i>Ketamin</i>	14
3.1.3	Halucinogeny.....	14
3.1.3.1	<i>Salvinorin A</i>	15
3.1.3.2	<i>Psilocybin a psilocin</i>	16
3.1.3.3	<i>Meskalin</i>	17
3.1.3.4	<i>LSD</i>	18
3.2	CNS TLUMÍCÍ LÁTKY.....	19
3.2.1	Opioidy.....	19
3.2.1.1	<i>Morfin</i>	19
3.2.1.2	<i>Kodein</i>	19
3.2.1.3	<i>Methadon</i>	20
3.2.2	Benzodiazepiny.....	20
3.2.2.1	<i>Flunitrazepam</i>	21
3.2.2.2	<i>Diazepam</i>	22
3.2.3	Barbituráty.....	22
4	VLIV NÁVYKOVÝCH LÁTEK NA PRŮBĚH GRAVIDITY	23
5	STANOVENÍ OMAMNÝCH A PSYCHOTROPNÍCH LÁTEK.....	25
5.1	ÚPRAVA VZORKU.....	25
5.1.1	Dekontaminace.....	25
5.1.2	Hydrolyza.....	26
5.1.3	Extrakce.....	26

5.1.4	Derivatizace	27
5.2	ANALYTICKÉ METODY	27
5.2.1	Imunologická analýza látek.....	28
5.2.2	Chromatografická analýza látek.....	28
5.2.3	Analýza látek kapilární elektroforézou	29
5.2.4	Analýza látek iontovou mobilní spektrometrií.....	29
5.3	STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK VE VLASECH	29
5.4	STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V NEHTECH.....	30
5.5	STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK VE SLINÁCH	31
5.6	STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V MEKONIUM	31
5.7	STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V POTU	32
5.8	STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V MOZKU	32
6	ZÁVĚR	38
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	39
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	40
9	SEZNAM POUŽITÝCH INTERNETOVÝCH ZDROJŮ.....	44

1 ÚVOD

Omamné a psychotropní látky představují takové substance, které ovlivňují centrální nervový systém (CNS) a tím působí změny v chování celého organismu.

Návykové látky způsobují metabolické změny v lidském organismu, v jejichž důsledku vzniká psychická a fyzická závislost navíc doprovázená tolerancí, při níž dochází ke zrychlenému odbourávání požitých látek. Osoby závislé na těchto látkách jsou nuceny vlivem zmíněné tolerance zvyšovat dávky. Závislost je možné definovat jako úplnou ztrátu kontroly nad vlastním tělem a myslí, která vede k nutkavému užívání těchto látek [1]. Tyto procesy spojené s užíváním drog eventuelně léků, jsou však závislé na individualitě uživatele [2].

Užívání návykových látek, krom vzniku závislosti a tolerance, s sebou nese závažnější riziko, a to zdravotní. Nejnebezpečnější formou aplikace dávky je intravenosní podání, to znamená aplikace přímo do krevního řečiště [1]. Užívání zakázaných látek a životní styl jim odpovídající s sebou nese jisté společenské opovržení. Drogově závislí jedinci jsou ve většině případů nezaměstnaní, žijí v chudobě a bez domova, podléhají trestným činům [3].

Důvody zneužívání návykových látek mohou být různé. Značná část uživatelů se k těmto látkám schyluje v důsledku špatné životní situace, kdy jim zdánlivě ulehčují od problémů a pomáhají jim na ně dočasně zapomenout. Mezi rizikové faktory patří především opakované neúspěchy ve škole či práci, špatné vztahy s ostatními lidmi či jiné osobní problémy. Po první dávce se jim skutečně uleví, na starosti nemyslí a je jim jednoduše dobře, proto sahají po dalších a dalších dávkách. Postupem času si vypěstují závislost a v případě vynechání dávky se objeví abstinenční příznaky projevující se nejčastěji podrážděností, neklidem, nevolností a křečemi. Hlavním smyslem života narkomanů je poté boj o získání dalších dávek, což není jednoduché, a stráví tím prakticky veškerý svůj čas [1].

V poslední době se hodně mluví o dopadu užívání ilegálních látek na životní prostředí. Jedná se o znečištění prostředí, zvláště odpadních a povrchových vod, a o nebezpečné vlivy na organismy, které z této situace vyplývají [4, 5].

2 LEGISLATIVA

Distribuce a použití omamných a psychotropních substancí, návykových látek či drog, je zákonem zakázána, ovšem s výjimkou pro lékařské a farmaceutické využití. Manipulaci s těmito látkami shrnují následující zákony.

Úplné znění zákona č. 466/2004 o návykových látkách popisuje zacházení s návykovými látkami, přípravky a prekursorry, které tyto látky obsahují. Jedná se o jejich vývoz, dovoz, skladování, zpracování, výzkum a zneškodňování jejich odpadů. Dále pojednává o povolení a registraci výrobců, dovozců a vývozců těchto látek, jejich zdravotní a odborné způsobilosti. Začleněna je ohlašovací povinnost a evidence osob manipulujících s návykovými látkami. Obsahuje i část o udělování sankcí, pokut a průběhu správního řízení.

Návykové látky popisuje i Sběrka zákonů č. 167/1998. V aktualizované formě ji lze nalézt jako Sběrku zákonů č. 141/2009. Sběrka zákonů č. 106/2011 informuje o nových látkách, které byly zařazeny na seznamy omamných a psychotropních látek.

Součástí zákona jsou již zmíněné seznamy omamných a psychotropních látek, které si lze prohlédnout na webových stránkách Ministerstva vnitra (1 - 4).

3 KLASIFIKACE OMAMNÝCH A PSYCHOTROPNÍCH LÁTEK

Možností jak rozdělit omamné a psychotropní látky existuje více. Byl zvolen způsob podle principu účinku, zahrnující látky jak přírodního tak syntetického charakteru.

3.1 PSYCHOMIMETIKA^a

3.1.1 CNS STIMULANCIA

3.1.1.1 AMFETAMIN A METAMFETAMIN

Amfetamin [2-amino-1-fenylpropan (2)] a jeho metabolit metamfetamin, známý spíše jako pervitin [1-fenyl-2-methylaminopropan (2)], jsou obecně silně psychostimulující látky, které zvyšují výkonnost organismu. Po požití tedy odstraňují únavu a potřebu spánku, přináší euforii, dobrou náladu a již zmíněnou aktivitu organismu. Při dlouhodobém podávání vysokých dávek amfetaminu se může u dotyčného objevit „amfetaminová psychóza“, způsobující

^apsychomimetika - psychostimulancia; látky zvyšující aktivitu organismu

halucinace či paranoiou. Intoxikace se projevuje nevolností, psychózami až sebevražednými sklony. Může dojít i k akutnímu krvácení do mozku.

Nejběžnější forma užívání amfetaminu je perorální podání. Metamfetamin je přijímán ve formě tablet, injekcí nebo kouřením. Amfetaminy v kombinaci s opioidy zvyšují jejich analgetické účinky^b. Interakce metamfetaminu s alkoholem též vykazuje jeho vyšší aktivitu.

Tyto amfetaminy podporují uvolňování neurotransmiterů^c, jako je noradrenalin, serotonin a dopamin v centrální i periferní nervové soustavě. Zároveň inhibují monoaminoxidázy, což jsou enzymy, které metabolizují právě tyto neurotransmitery. V důsledku těchto pochodů dochází při opakovaných dávkách k rychlému vzniku tolerance. Vzhledem k jejich nízké molekulové hmotnosti, slabě bazickému charakteru a malé schopnosti vázat se na bílkoviny rychle přestupují přes biologické membrány a jejich účinek je rychlý a významný i v malých koncentracích.

I z tohoto důvodu jsou tyto látky jednoduchým způsobem stanovovány v netradičních matricích, zvláště v těch, které mají pH nižší než je pH krve. Vhodnými matricemi pro stanovení amfetaminů jsou tělní tekutiny, jako jsou sliny a pot, dále pak vlasy a nehty, kde se tyto látky ukládají do bílkoviny keratinu. Ve vlasech lze prokázat amfetamin až měsíc od jeho požití. A obzvláště v nehtech se hromadí více než ve vlasech [6].

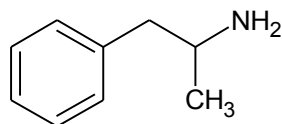


Schéma 1 – Strukturální vzorec amfetaminu [6]

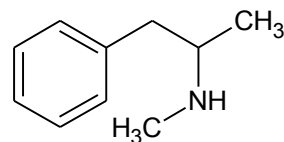


Schéma 2 – Strukturální vzorec metamfetaminu [6]

3.1.1.2 EXTÁZE

Extáze [1-(3,4-methylenedioxyfenyl)-2-methylaminopropan (2)] je syntetickou drogou a byla vyrobena v roce 1914. Avšak z lékařského hlediska nemá prozatím žádné uplatnění. Je dostupná především ve formě tablet či kapslí určených k perorálnímu podání, ale lze ji podat i ve formě roztoku prostřednictvím injekcí.

^b analgetické účinky - utišení bolesti

^c neurotransmitery - nervové přenašeče

Účinek se objeví obvykle do jedné hodiny po aplikaci a projeví se pocitem velmi dobré nálady s přemírou energie, dále pak zvýšeným smyslovým vnímáním nebo i depresemi. Mezi toxické účinky se řadí únava, nevolnost, třes, poruchy oběhového systému či psychiky a nakonec až smrt. Dlouhodobě působí toxicky na játra a CNS.

Mechanismus účinku spočívá v inhibici tryptofanhydroxylázy, což je enzym, který ovlivňuje produkci serotoninu. Dochází tak ke zvýšenému uvolňování serotoninu do krve a serotonin je právě zodpovědný za dobrou náladu [7].

Životu nebezpečná je kombinace extáze a léků proti retrovirům. Snížení účinků extáze lze docílit podáním antidepresivního léčiva Citalopram nebo běžným analgetikem Aspirin. Studiemi bylo zjištěno, že dochází ke kumulaci této látky ve slinách [6].

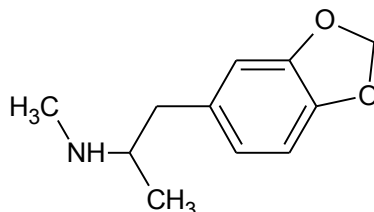


Schéma 3 – Strukturní vzorec extáze [6]

3.1.1.3 EFEDRIN

Efedrin [2-methylamino-1-fenyl-1-propanol (2)] je amfetamin, který obsahuje tropický keř čeledě chvojníkovitých. Poprvé byl synteticky připraven v roce 1885.

Tento sympatomimetický amin zvyšuje srdeční frekvenci. Používá se, podobně jako morfin (viz dále), k utišení bolesti spojené s nádorovým onemocněním. Dále jej lze použít při léčbě křečí a astmatu, neboť vykazuje bronchodilatační účinky^d [6, 8]. Mimo jiné ho zneužívají i sportovci, neboť povzbuzuje organismus [9].

Efedrin slouží jako výchozí látka pro syntézu metamfetaminu (Schéma 5). Meziproduktem této reakce je chlorofedrin. Bylo zjištěno, že právě chlorofedrin je ještě obsažen v produktu a je zodpovědný za kardiovaskulární změny v organismu, může vykazovat až kardiovaskulární toxicitu [10].

^d bronchodilatační účinky - rozšiřování průdušek

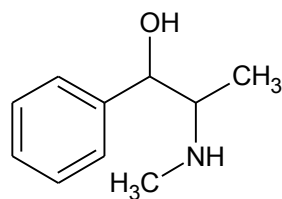


Schéma 4 – Strukturní vzorec efedrinu [6]

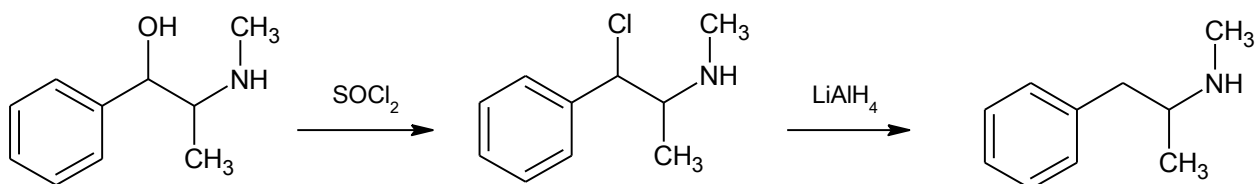


Schéma 5 - Syntéza metamfetaminu [10]

3.1.1.4 KOKAIN

Kokain [methylester kyseliny [1R-(exo,exo)]-3-(benzoyloxy)-8-methyl-8-azabicyklo[3.2.1]oktan-2-karboxylové (2)] silně stimuluje mozek, jehož výsledkem je euforie, vzrušení, nepravidelný srdeční rytmus, zrychlený tep a dýchání [11, 12]. Stavby jsou přirovnávány k užívání amfetaminů. Kokain lze užívat injekčně, šňupáním nebo kouřením [13]. Uvádí se, že je po konopí druhou nejzneužívanější látkou v Evropě [4].

Mechanismus účinku spočívá v inhibici dopaminových přenašečů. Ale působí také na přenašeče serotoninové, a na draselné i vápenaté kanály [14].

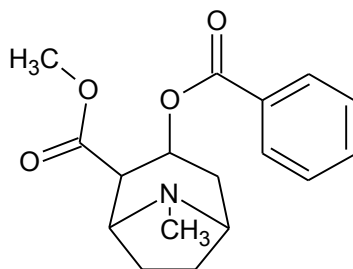


Schéma 6 – Strukturní vzorec kokainu [15]

3.1.2 SYNTETICKÉ DELIROGENY^e

Syntetické delirogeny jsou někdy řazeny do skupiny halucinogenů, jakožto jejich speciální skupina.

3.1.2.1 *KETAMIN*

Ketamin [2-(2-chlorofenyl)-2-methylamino-cyklohexan-1-on (2)] je znám jako celkové anestetikum^f, které se dnes používá spíše ve veterinárním lékařství [7]. Mimo své anestetické účinky vykazuje i analgetické účinky a zvyšuje krevní tlak, což je žádoucí v určitých kritických stavech [16].

Nejvhodnějším způsobem aplikace je injekční podání, nástup účinku je tudíž rychlý. Další typický způsob podání je inhalace prášku. Při vyšších dávkách způsobuje halucinace, a proto je tato látka zneužívána. Avšak má také toxické účinky a způsobuje dýchací problémy, nevolnost a příznaky podobné schizofrenii. Uživatelé této látky se potýkají s rychlým vznikem tolerance a psychické závislosti.

Ketamin blokuje vápníkové kanály a zabraňuje zpětnému vychytávání neurotransmiterů. Ale přesný mechanismus účinku není zcela znám [7].

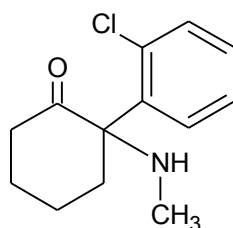


Schéma 7 – Strukturní vzorec ketaminu [17]

3.1.3 HALUCINOGENY

Halucinogeny představují především skupinu látek přírodního původu. Jsou to látky, které hluboce narušují určitou rovnováhu organismu a přivádějí ho do psychotických stavů. Způsobují jisté sluchové, zrakové i hmatové představy (= halucinace). Tyto stavy jsou vyvolány navázáním halucinogenu na specifický serotoninový receptor, který je poté stimulován [18].

Stanovení těchto psychoaktivních látek se zdá být komplikované, neboť každá skupina látek vyžaduje jinou metodu analýzy.

^e delirogeny - látky vyvolávající blouznění

^f anestetikum - látka sloužící k umělému usnutí pacienta

Avšak plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií poskytuje uspokojivé výsledky pro široké spektrum halucinogenních látek [19].

3.1.3.1 SALVINORIN A

Salvinorin A [methyl-(2*S*,4*aR*,6*aR*,7*R*,9*S*,10*aS*,10*bR*)-9-acetoxy-2-(furan-3-yl)-6*a*,10*b*-dimethyl-4,10-dioxododekahydro-2*H*-benzo-[*f*]-isochromen-7-karboxylát (4)] je nová droga, jejíž účinky jsou studovány, a zdá se, že by tato látka mohla najít uplatnění při léčbě bolesti a některých psychických chorob, jako je Alzheimerova nemoc nebo schizofrenie.

Salvinorin A je hlavní složkou šalvěže divotvorné a má psychoaktivní účinky, které způsobují změny v chování [20]. V této rostlině je Salvinorin A doprovázen Salvinorinem B, ale ten nevykazuje žádný farmakologický účinek [21]. Účinky této halucinogenní látky jsou: snižuje krevní tlak a pulz, zvyšuje dýchání a potřebu se smát, dává vzniknout paranoidním představám [22]. Z průzkumu mezi uživateli vyšlo, že účinek Salvinorinu A je poměrně krátký. Jako nežádoucí účinky požívání šalvěže divotvorné se objevují gastrointestinální, neurologické a kardiovaskulární potíže. Při inhalaci Salvinorinu A jsou tyto potíže prakticky nevýznamné [20].

Užívání šalvěže divotvorné je možné několika způsoby, a to formou odvaru z listů, jejich kouřením nebo samotným žvýkáním [22].

Tento diterpen působí na kappa opioidní receptory[§], aniž by ovlivňoval serotoninové receptory, jako je tomu u klasických halucinogenů (LSD, psilocybin, meskalin a jiné) [20].

[§] kappa receptory - receptory, které váží opioidy a vyvolávají jejich charakteristické účinky

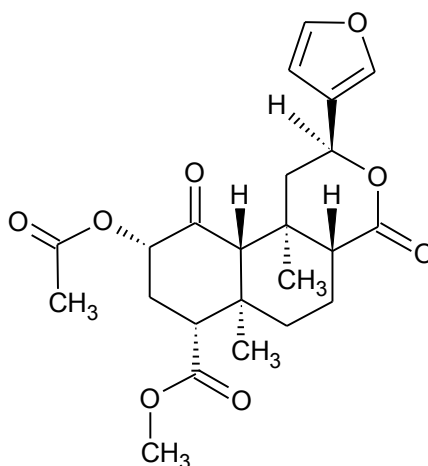


Schéma 8 - Strukturní vzorec salvinorinu A [21]

3.1.3.2 PSILOCYBIN A PSILOCIN

Psilocybin [4-fosforyloxy-*N,N*-dimethyltryptamin (2)] spolu s psilocinem [4-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin (2)] se vyskytuje v různých druzích hub. Nejznámějším rodem hub jsou lysohlávky [18]. V omamných houbách jsou ještě přítomny další účinné látky, jako jsou indoly nebo fenylethylaminy. Fenylethylaminy jsou skupinou látek, která je strukturně podobná amfetaminům.

Užívání hub se děje perorální cestou. Halucinogenní účinky, jako jsou reálné halucinace, euforie, přemíra energie a smíchu, se dostávají po požití 1 g sušených hub nebo 10 g hub čerstvých a přetrvávají obvykle 1 - 6 hodin [2]. Účinky jsou srovnávány s účinky LSD (viz dále), přičemž nejsou tak intenzivní [23]. Se zvyšující se dávkou se zintenzivňují účinky omamných látek, a i nízké dávky prokazují významný účinek [24].

Jako u všech omamných látek, i zde se uživatelé lysohlávek potýkají s nežádoucími účinky, mezi něž patří problémy se spánkem, paranoia, nebo poruchy vidění. Dále pak kardiovaskulární potíže a nevolnost, za což může přítomnost zmíněných fenylethylaminů. Smrt z předávkování halucinogenních hub je vzácná, spíše je to záležitost kombinování s jinou drogou nebo alkoholem. Vznik tolerance bývá v tomto případě poměrně rychlý.

Byť jen jediná zkušenost s omamnými houbami má velmi negativní vliv na psychický stav člověka. Halucinogenní stavy se občas vracejí i přesto,

že nedošlo k příjmu halucinogenu. „Flashbacky“, jak se těmto poruchám říká, se mohou objevovat řádově až roky po požití [2].

Bylo zjištěno, že účinky, mezi něž patří dobrá nálada či mystické zážitky, vykazují, krom „flashbacků“, určitý trvalejší charakter. Jedná se o přehodnocení osobního a duchovního stylu života vlivem prodělaných příjemných i nepříjemných zážitků. Dotyční jedinci přemýšlejí například o větším významu smrti. Z tohoto důvodu by bylo možno podávat psilocybin pacientům, kteří trpí smrtelným onemocněním [24].

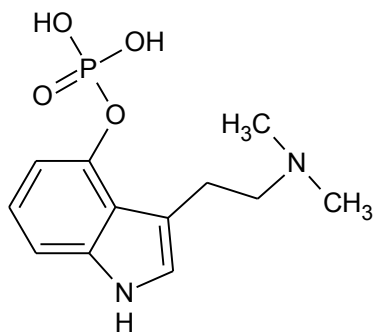


Schéma 9 – Strukturní vzorec psilocybinu [18]

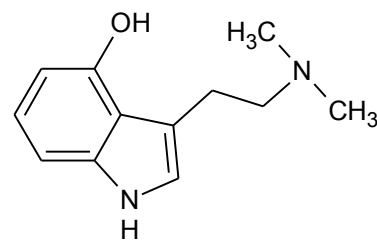


Schéma 10 – Strukturní vzorec psilocinu [18]

3.1.3.3 MESKALIN

Alkaloid meskalin [2-(3,4,5-trimethoxyfenyl)ethanamin (2)] je obsažen v kaktusu Peyotl. Tento druh pochází z jihozápadu Spojených států a severního Mexika. Meskalin může být podán jako čaj, tableta nebo listy kaktusu.

Vyazuje halucinogenní účinky spojené s neklidem a tachykardií^h. Za halucinace jsou zodpovědné methoxy skupiny, které jsou přítomny v molekule meskalinu. Případy úmrtí vlivem intoxikace nebyly zatím hlášeny [25]. Akutní intoxikace meskalinem se projevuje zažívacími potížemi [26].

Mechanismus účinku lze přirovnat k již zmíněnému psilocybinu nebo následujícímu LSD, je tedy agonistou serotoninových receptorů [23, 26].

^h tachykardie - zvýšená tepová frekvence

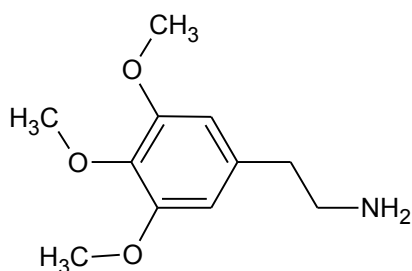


Schéma 11 - Strukturní vzorec meskalinu [18]

3.1.3.4 LSD

Diethylamid kyseliny lysergové neboli LSD je součástí námelových alkaloidů, jakožto derivát kyseliny lysergové a diethylaminu [27, 28]. První syntetický preparát této sloučeniny byl připraven v roce 1938 a o 5 let později byly prokázány jeho halucinogenní vlastnosti [28].

LSD způsobuje, stejně jako ostatní halucinogeny, změny v lidském chování a vnímání. Je to nejsilnější halucinogen, který působí opět na serotoninové a dopaminové receptory [29]. Uživatelé se mohou potýkat s „flashbacky“, podobně jako u užívání psilocybinu a psilocinu. Způsob podání LSD je možný perorální cestou a účinkuje ve velmi nízkých koncentracích. Psychotropní účinky se objevují už kolem 20 - 50 µg v jedné dávce [28].

V organismu dochází k metabolizačním procesům LSD, proto je obtížné tuto sloučeninu detekovat v tělních tekutinách [30].

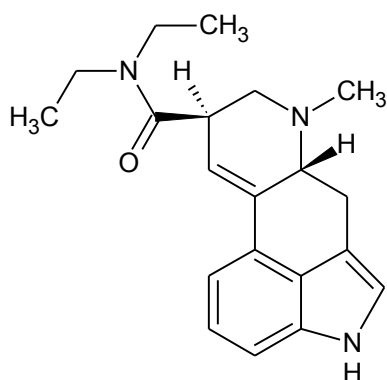


Schéma 12 – Strukturní vzorec LSD [18]

3.2 CNS TLUMÍCÍ LÁTKY

3.2.1 OPIOIDY

Opioidy přírodního charakteru jsou obsažené v opiu máku setého. Opium představuje šťávu nezralých makovic, v nichž je přítomna směs alkaloidů. Nejvýznamnější z nich je morfin a kodein. Opium je také hlavní výchozí látka pro výrobu heroinu [31].

3.2.1.1 MORFIN

Morfin [7,8-didehydro-4,5-epoxy-17-methylmorfinan-3,6-diol (2)] představuje silné analgetikum, které se používá na utišení bolesti především v pokročilých a terminálních stádiích rakoviny. Na morfin si lidský organismus rychle přivyká, vzniká jak tolerance, tak fyzická závislost.

Intoxikace morfinem se projevuje křečemi, kardiovaskulárními problémy a respiračním selháním, což vede ke komatu [32]. Vlivem morfinu může dojít k poruchám CNS až smrti. Uvádí se, že za smrtelnou dávku se považuje 120 mg [33].

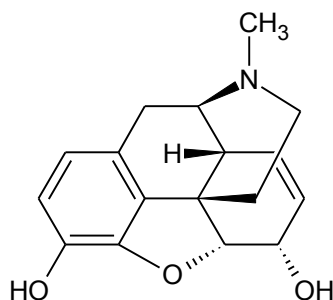


Schéma 13 - Strukturní vzorec morfinu [34]

3.2.1.2 KODEIN

Kodein [7,8-didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-methylmorfinan-6-ol (2)], podobně jako morfin, má analgetické účinky, kterých se využívá k odstranění bolesti způsobené poraněním periferních nervů. Princip účinku je založený na inhibici vychytávání serotoninu, noradrenalinu a jiných neurotransmiterů, a blokádě sodíkových kanálů v synaptických štěrbinách nervových buněk [35].

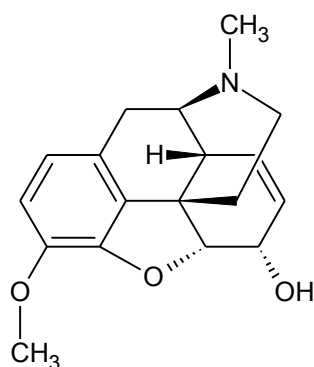


Schéma 14 - Strukturní vzorec kodeinu [34]

3.2.1.3 METHADON

Methadon [4,4-difenyl-*N,N*-dimethylamino-3-heptaton (2)] je součástí odvykací kúry při závislosti na heroinu a morfinu [36]. Doporučuje se i v období těhotenství [1]. Methadon se používá také k utišení nesnesitelné bolesti [36].

Methadon vykazuje lipofilní charakter a disponuje dlouhým účinkem, uvádí se 15 - 60 hodin po požití. Lze jej podat i intramuskulárněⁱ. Z nežádoucích účinků methadon způsobuje útlum, euforii, nevolnost a ztrátu libida. Může se objevit i závislost, obzvláště při náhlém vysazení léku [36, 37].

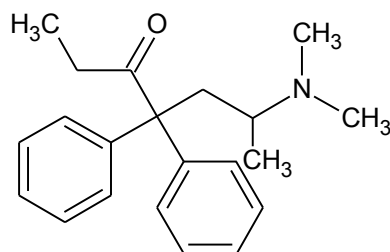


Schéma 15 - Strukturní vzorec methadonu [34]

3.2.2 BENZODIAZEPINY

Benzodiazepiny patří do skupiny látek, které jsou relativně snadno dostupné, neboť se jedná o léčiva s poměrně širokým spektrem účinku [38]. Působí na CNS a léčí se jimi deprese, nespavost či epilepsie. Najdou uplatnění i jako anestetika, myorelaxancia^j a hypnotika. V kombinaci s alkoholem mohou vyvolat

ⁱ intramuskulární podání - aplikace do svaloviny

^j myorelaxancia - látky uvolňující křeče příčně pruhovaného svalstva

respirační depresi^k [39]. Vedlejší účinky se projevují depresí, dezorientací, únavou [40]. Na tyto látky vzniká snadno tolerance a závislost. Mechanismus účinku spočívá ve stimulaci GABA receptorů^l v CNS a dochází tak ke zvyšování sedativního účinku [41].

Skupinu těchto zneužívaných látek je možno rozdělit na dvě podskupiny, které se liší svým metabolismem. Jde o podskupinu, která je metabolizována cytochromem P450. Cytochrom P450 je enzym, který metabolizuje většinu léčiv, a umožňuje tím interakci s jinými léčivy. Naopak u druhé podskupiny je interakce s jinými léčivy minimální, neboť jsou metabolizovány kyselinou glukuronovou biotransformačním procesem glukuronidace [40].

3.2.2.1 FLUNITRAZEPAM

Flunitrazepam [1,3-dihydro-5-(*o*-fluorfenyl)-1-methyl-7-nitro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-on (2)], známý jako Rohypnol, patří do skupiny hypnotik a léčí se jím poruchy spánku. Používá se i jako anestetikum. Jelikož základ této léčivé látky tvoří benzodiazepiny, řadí se i do skupiny psychotropních látek, na něž vzniká fyzická závislost.

Nejběžnější lékovou formou jsou tablety s nástupem účinku kolem 15 minut. Při vyšších dávkách dochází ke ztrátě kontroly nad svalovou pohyblivostí, ke zmatenosti, závratím až bezvědomí. Některé tyto poruchy mohou být i dlouhodobé. Při současném požívání alkoholu nebo jiných sedativ dochází ke zvyšování účinku flunitrazepamu.

Mechanismus účinku je dán inhibicí neurotransmiterů. Snižuje se polarizace membrán, a tím se snižuje přenos nervového signálu z buňky na buňku [7].

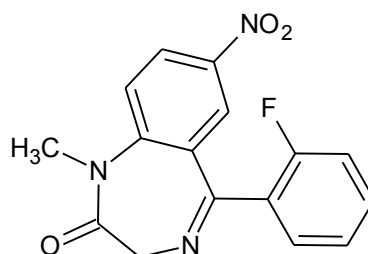


Schéma 16 - Strukturní vzorec flunitrazepamu [39]

^k respirační deprese - útlum dechu

^l GABA receptory - receptory γ -aminomáselné kyseliny

3.2.2.2 DIAZEPAM

Diazepam [1,3-dihydro-5-fenyl-7-chlor-1-methyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-on (2)] podléhá v organismu metabolizačním procesům a proto je obtížné ho detekovat [41]. Mechanismus účinku a vlastnosti odpovídají již zmíněnému obecnému mechanismu benzodiazepinů [42, 43].

Nízké dávky mají anxiolytický účinek^m, ve vyšších dávkách pak účinek narkotický, který se projevuje útlumem až hypnózou. Proto bývá tento lék zneužíván [43].

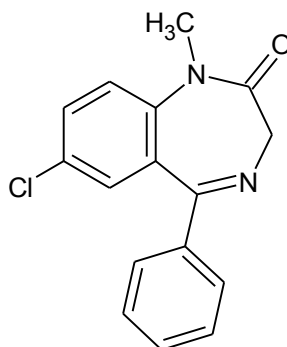


Schéma 17 - Strukturální vzorec diazepam [44]

3.2.3 BARBITURÁTY

Barbituráty, které se používají od roku 1903, jsou látky odvozené od kyseliny barbiturové. Mají sedativní, hypnotické a antiepileptické účinky, avšak od jejich léčebné vlastnosti se upouští [45 - 47]. Právě kvůli snadné intoxikaci jsou nahrazovány benzodiazepiny, které jsou v tomto ohledu považovány za bezpečnější [42]. K dalším účinkům patří odstraňování úzkosti, snižování krevního tlaku a srdeční frekvence. Nachází uplatnění též ve veterinárním lékařství jako celková anestetika [47].

Mezi hlavní zástupce této skupiny patří například barbital [5,5-diethylbarbiturová kyselina (2)] a fenobarbital [5-ethyl-5-fenylbarbiturová kyselina (2)] [45].

^m anxiolytický účinek - odstraňuje úzkostné stavy

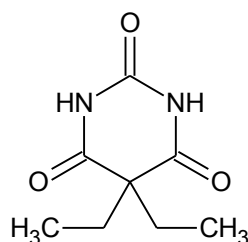


Schéma 18 - Strukturální vzorec barbitalu [45]

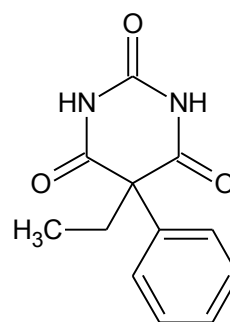


Schéma 19 - Strukturální vzorec fenobarbitalu [45]

4 VLIV NÁVYKOVÝCH LÁTEK NA PRŮBĚH GRAVIDITY

Návykové látky jsou toxické pro zdravého jedince, natož pak pro těhotné ženy a jejich dítě. Užívání drog během těhotenství je velmi nebezpečné, neboť může dojít až ke smrti nenarozeného plodu. Vykazují proto teratogenní účinky. Dále vyvolávají riziko výskytu předčasného či komplikovaného porodu, narození dítěte s určitými poruchami nebo deformacemi, a již zmíněné spontánní potraty. Dochází i ke změnám metabolismu organismu a ke vzniku hormonální nerovnováhy.

Nenarozenému dítěti může velmi uškodit i alkohol nebo kouření tabáku a marihuany. Marihuana má antiemetické účinkyⁿ a například u domorodců v Austrálii je v těhotenství spíše vítaná. Nastávajícím matkám není špatně a toxické vlastnosti se dostávají do pozadí, neboť o nich kolikrát nevědí [3].

Těhotné ženy, které užívají nějaké omamné a psychotropní látky, jsou náchylnější k různým infekčním onemocněním, než ostatní gravidní ženy. Jedná se především o pohlavně přenosné choroby, jako je AIDS nebo žloutenka. Uvádí se, že existuje 5ti % riziko přenosu viru z matky na plod. Novorozenci matek, které berou návykové látky (ať už jde o drogy nebo „jen“ nikotin), potřebují zvýšenou péči, a ta se stává ekonomicky náročnější [1]. Možné komplikace a účinky návykových látek na plod jsou uvedeny v tabulce 1.

Přítomnost návykové látky v těle nastávající matky lze prokázat z různých matric matky i dítěte, ať už je to mekonium^o, vlasy, placenta, pupeční šňůra, mateřské mléko nebo i mozek plodu v případě jeho úmrtí [48].

ⁿ antiemetické účinky - potlačují nevolnost a zvracení

^o mekonium - tzv. smolka; obsah střev plodu

Tabulka 1 – Vliv návykových látek na graviditu a plod [1]

Návyková látka	Komplikace v těhotenství	Dopady na novorozence	Dlouhodobé účinky
Nikotin	Spontánní potrat	Zvýšená perinatální úmrtnost ^p	Dětské astma
	Předčasný porod		Hyperaktivita
	Nitroděložní deformace	Syndrom náhlého úmrtí kojenců	Společenské problémy
	Odrážení placenty		
Kokain	Spontánní potrat	Vrozené svalové a kosterní vady	Jazykové zpoždění
	Předčasný porod	Menší porodní hmotnost a délka	
	Nitroděložní deformace	Nervové poruchy	
	Odrážení placenty		
Amfetaminy	Vysoký krevní tlak matky	Kardiovaskulární problémy	Společenské problémy
	Fetální úmrtí	Ústní rozštěpy	
	Nitroděložní deformace	Špatná kvalita pohybu	
Halucinogeny		Vrozené kardiovaskulární poruchy	
		Onemocnění ledvin	

^p perinatální období - období před narozením a krátce po narození

5 STANOVENÍ OMAMNÝCH A PSYCHOTROPNÍCH LÁTEK

Mezi nejvýznamnější netradiční resp. alternativní matrice se řadí vlasy, nehty, sliny a mekonium. Důležitý je i pot či mozek [49]. Uvedené netradiční matrice získávají na významnosti, mají obrovskou perspektivu a čím dál více jsou používány v klinické a soudní toxikologii. Byly provedeny i další analýzy netradičních matric, například analýza perikardiální tekutiny^a, sklivce, kostí, zubů či jater [31].

Analýza vlasů i jiných netradičních matric, na rozdíl od analýzy krve či moči, nese obrovský význam v tom, že lze prokázat omamné látky, se kterými byl dotyčný jedinec v kontaktu před týdny až měsíci. Kdežto v případě moči a krve se jedná nanejvýše o 4 dny. I přes tuto skutečnost se analýzy navzájem doplňují. Poskytují informace krátkodobého charakteru (např. jaká je rychlost vylučování) a informace, které podhalí historii dané substance. Ta je důležitá pro soudní lékařství, neboť díky těmto informacím lze např. prokázat, zda došlo ke spáchání trestného činu právě pod vlivem zakázaných látek [31, 50].

Odebírání vzorků vlasů, nehtů, slin, potu či mekonia není náročné. Pacient při odběru nikterak netrpí jako je tomu u odběru krve a moči. Předejde se tak fyzické bolesti nebo narušování soukromí [31]. Stanovení omamných a psychotropních látek z matric je ztíženo procesem metabolizace či biotransformace, ke které ve většině případů v lidském organismu dochází [40, 41].

Pro vyvíjení nových metod se používají deuterované vnitřní standardy návykových látek ve spojení s hmotnostní detekcí. Lze poté ověřit účinnost nových metod. Deuterované vnitřní standardy se zavádějí do sledovaných matric, které tyto látky neobsahují. Deuterované vnitřní standardy vykazují stejné vlastnosti jako cílové sloučeniny, které by byly přítomny v matricích [51].

5.1 ÚPRAVA VZORKU

5.1.1 DEKONTAMINACE

Spekuluje se o možnosti kontaminace matric návykovými látkami ze životního prostředí [50]. Tato nevýhoda může rušit vlastní stanovení [31]. Proto analýza vzorků, podezřelých z přítomnosti omamných látek,

^a perikardiální tekutina - tekutina mezi srdečními obaly

vyžaduje úpravu vzorků promýváním. Dekontaminace se provádí i za účelem odstranění mastnoty a jiných nečistot z povrchu matric [31, 52].

5.1.2 HYDROLÝZA

Po dekontaminaci je prováděna hydrolyza za účelem rozrušení struktury matric s následnou izolací stanovovaných látek [51, 53]. Vzorky lze hydrolyzovat třemi různými způsoby. Jedná se o hydrolyzu alkalickou, kyselou nebo enzymatickou.

Alkalická hydrolyza využívá 0,1 až 2,5 M NaOH. Inkubace je prováděna obvykle přes noc při teplotě 37 °C. Následuje úprava roztoku na pH = 9 pomocí kyseliny a extrakce tuhou fází (SPE). Tato úprava vzorku je použitelná pro morfin, amfetaminy a kanabinoidy^r.

Kyselá hydrolyza se provádí 0,1 až 0,6 M HCl nebo 0,05 M H₂SO₄. Inkubace se také realizuje přes noc při pokojové teplotě nebo při 37 °C. Poté je směs neutralizována a extrahována pomocí SPE [51]. Vzorek je možné hydrolyzovat i pomocí směsi methanolu a kyseliny trifluoroctové v poměru 9:1 (v/v). Kyselá hydrolyza je používána pro morfin [53].

Enzymatická hydrolyza se uskutečňuje pomocí směsi enzymů β-glukuronidázy a arylsulfatázy po dobu 2 hodin a teplotě 40 °C. Vzorek je dále centrifugován a extrahován pomocí SPE. Tento způsob extrakce je vhodný pro detekci kokainu, avšak disponuje jistou ekonomickou náročností [51].

Takto hydrolyzované vzorky ještě nejsou připraveny pro přímou analýzu. Je nutné vzorky před vlastním stanovením vyčistit a zakoncentrovat pomocí extrakce [54].

5.1.3 EXTRAKCE

Extrakčními technikami se ze vzorků odstraňují rušivé vlivy resp. nečistoty. Jedna z prvních používaných extrakčních metod je extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE). LLE je použitelná pro kapalné vzorky [12, 55]. Principem LLE je převedení roztoku vzorku do organického rozpouštědla. Mezi vodnou a organickou fází se pak ustanovuje rovnováha. Je potřeba zajistit, aby byl analyt obsažen v organické fázi. LLE má velký význam, neboť díky ní lze z roztoku odstranit metabolity, které by mohly rušit vlastní stanovení. Nevýhodou bývá problém s odstraněním rozpouštědla, které je

^r kanabinoidy - látky obsažené v konopí

ekonomicky náročnější. Ať už jde o odpařování nebo odstraňování v proudě dusíku, je potřeba brát v potaz toxicitu a hořlavost organických rozpouštědel. Většina používaných rozpouštědel právě tyto vlastnosti má [55].

Další užívanou technikou pro kapalně vzorky je SPE [12]. Předností SPE je její vysoká účinnost a použití malých množství rozpouštědel [56]. Postup SPE je složen ze čtyř kroků, a to z kondicionace SPE kolonek, dávkování vzorku, promývání vzorku a eluce analytu. V závislosti na druhu stanovovaných látek jsou voleny vhodné sorbenty, pH, rozpouštědla, jejich objemy a průtok [12].

Lze použít i mikroextrakci tuhými fázemi (SPME). Aplikace mikroextrakce nevyžaduje použití rozpouštědel a někdy ani derivatizaci, což je výhodné [12, 57]. Amfetaminy, methadon a kokain lze stanovit právě touto metodou [54]. SPE a SPME bývají používány v kombinaci s plynovou chromatografií (GC) [12].

Místo LLE, SPE nebo SPME je možno využít superkritickou fluidní extrakci (SFE). SFE využívá kritických teplot a tlaků extrakčních tekutin. Nejčastěji používanou superkritickou tekutinou je oxid uhličitý, který má mnoho výhod, mezi něž patří nehořlavost, nulová toxicita, ekonomická dostupnost či nízká kritická teplota (31 °C) [55]. Pomocí SFE lze určit opioidy či kokain [54].

5.1.4 DERIVATIZACE

Po extrakci se v některých případech provádí derivatizace z důvodu snadnější detekce derivátů než původních látek [57]. Mezi nejpoužívanější derivatizační činidla patří *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (BSTFA) v 1 % roztoku trimethylchlorsilanu (TMCS) nebo mono(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (MSTFA). Mohou být použita i činidla jako je *N*-methyl-*N*-(terc-butyl-dimethylsilyl)trifluoroacetamid (MTBSTFA), anhydrid kyseliny pentafluoropropionové, pentafluoropropionyl či anhydrid kyseliny trifluoroctové [12, 58].

5.2 ANALYTICKÉ METODY

Podle druhu poskytované informace lze analytické metody rozdělit na metody „screeningové“ a metody potvrzovací. „Screeningové“ metody poskytují informace převážně kvalitativní a většinou jsou doplňovány metodami potvrzovacími, které poskytují informace kvantitativní [57].

5.2.1 IMUNOLOGICKÁ ANALÝZA LÁTEK

Imunologické metody jsou velmi rozšířenými „screeningovými“ technikami při stanovení drog v biologických matricích [12, 57]. Bezesporu mají řadu výhod, mezi něž je možno uvést snadné, rychlé a levné provedení, minimální nároky na přístrojovou techniku, citlivé a spolehlivé výsledky. Avšak jejich časově náročný vývoj, specifické použití, nemožnost detekovat víc látek najednou, patří k jejím stinným stránkám. Imunologické testy bývají doplňovány GC [57].

Radioimunoanalýza (RIA) je jednou z nepřesnějších imunologických metod. Je schopná detekovat látky i v nízkých koncentracích. Uvádí se, že výsledky RIA jsou srovnatelné s výsledky poskytnuté vysoko účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) [12]. RIA je vhodná pro detekci opioidů, kokainu a methadonu. Enzymatickou imunologickou analýzou (ELISA) je pak možné stanovit metamfetamin nebo morfin. ELISA poskytuje citlivé výsledky i v nízkých koncentracích látek ve vzorku. Jedná se o levnou, jednoduchou a spolehlivou metodu [51, 54].

5.2.2 CHROMATOGRAFICKÁ ANALÝZA LÁTEK

Mezi nejběžnější potvrzující metody pro stanovení omamných a psychotropních látek bezpochyby patří metody založené na plynové a kapalinové chromatografii (LC) s detekcí hmotnostní spektrometrie (MS). Pro vyšší citlivost se používá tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS) [51, 57].

GC/MS je univerzální metoda pro stanovení látek jak ve vlasech, tak i v jiných matricích, jako jsou nehty nebo biologické tekutiny [57]. GC je možné stanovit opioidy a kokain. Metoda poskytuje přesné a citlivé výsledky i při nízkých koncentracích látek ve vzorku. Kombinace GC/MS s elektronovou ionizací (EI) a monitorováním vybraných iontů (SIM) je aplikovatelná pro analýzu amfetaminů, opioidů, methadonu a kokainu.

LC/MS je vhodná pro analýzu amfetaminů [54]. LC s hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením (HRMS) je možné stanovit jinak nedělitelnou směs benzodiazepinů, která obsahuje až 28 benzodiazepinů a jejich metabolitů. LC/HRMS poskytuje přesné a citlivé výsledky [38].

Stále častěji používanou chromatografickou metodou je HPLC [54]. HPLC je nejčastěji spojována s MS či MS/MS [12]. Dále pak s UV detekcí, fluorometrií pro stanovení kokainu či morfinu, nebo chemiluminiscencí (CL) pro stanovení amfetaminu a metamfetaminu [51]. HPLC se upřednostňuje před GC v případě analýzy polárních a tepelně nestabilních látek. Disponuje vynikající citlivostí a specifičností [54]. Další možnou metodou je nano HPLC využívající mikrofluidní čip (nano-HPLC-chip) s MS/MS. Na rozdíl od klasické HPLC-MS/MS má výhodu ve zvýšené citlivosti, menší spotřebě vzorku, zkrácení doby analýzy a nepříliš náročné úpravě vzorku [59]. Přesné a citlivé výsledky poskytuje i HPLC/MS s průletovým analyzátozem (TOF). Tuto metodu lze aplikovat na detekci kokainu a jeho metabolitů. Ale z důvodu vysokých pořizovacích nákladů a nedostatku vysoce kvalifikovaných pracovníků je HPLC-TOF-MS prozatím málo využívána [12].

5.2.3 ANALÝZA LÁTEK KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZOU

Kapilární elektroforézou (CE) mohou být stanovovány ilegální látky. Disponuje vysokou účinností a krátkým časem analýzy. Při CE dochází k oddělování látek různou rychlostí v elektrickém poli [57]. Využívá malých objemů a nízkých provozních nákladů. CE je využívána jako alternativní metoda k metodám chromatografickým [46]. Pomocí CE v kombinaci s MS lze stanovit kokain či morfin [12, 51].

5.2.4 ANALÝZA LÁTEK IONTOVOU MOBILNÍ SPEKTROMETRIÍ

Iontová mobilní spektrometrie (IMS) je vhodná pro stanovení stopových množství látek z různých materiálů, ať už jde o biologické matrice, oblečení nebo dovážené výrobky. Předností této „screeningové“ metody je také její rychlost provedení a minimální úprava vzorku. Základním principem metody je odpaření a ionizace vzorku v elektromagnetickém poli. Separované částice pak unáší nosný plyn na detektor s různými časy v závislosti na jejich velikosti. Metoda poskytuje přesné a výsledky obzvláště pro benzodiazepiny [44].

5.3 STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK VE VLASECH

Analýza vlasů dokáže odhalit zneužívání nelegálních látek týdny, měsíce až rok poté, co byly vystaveny jejich působení. Ovšem záleží na délce daného vlasu a charakteru dané substance [31]. Ukládání omamných a psychotropních látek do vlasů je dáno hlavně množstvím vlasového pigmentu melaninu,

lipofilitou a bazickým charakterem látek. Čím významnější uvedené vlastnosti jsou, tím lépe se látky ukládají do struktur vlasů [41]. Je třeba podotknout, že vlasy dětí a dospělých se liší ve své struktuře. Dětské vlasy jsou jemnější a poréznější, čímž dochází ke snadnějšímu absorbování těchto látek do struktur vlasů [50].

Vzorek vlasů by měl mít minimálně 10 mg. Lze pracovat i s větším množstvím, nanejvýše s 200 - 300 mg. Je potřeba vlasy nastříhat na velmi malé segmenty a dekontaminovat je. Nejčastěji používanými činidly pro dekontaminaci vlasů je dichlormethan CH_2Cl_2 , methanol CH_3OH , 0,1 % dodecylsulfát sodný, 0,1 M fosfátový pufr (pH = 5) nebo přípravek Tween 20^s [53, 54, 60]. Inkubace v těchto činidlech probíhá při pokojové teplotě nebo teplotě vyšší, kolem 37 °C. Následuje hydrolýza, centrifugace a případná derivatizace [51]. Souhrn konkrétních postupů analýzy vzorků vlasů je uveden v tabulce 2.

5.4 STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V NEHTECH

Podobně jako analýza vlasů, tak i analýza nehtů nabývá v posledních letech na významnosti. Tyto analýzy jsou jednoduché jak na provedení, tak i na odběr vzorků, ve kterých lze látky a jejich metabolity prokázat delší dobu po expozici, samozřejmě v závislosti na délce nehtu. Uvádí se, že celý nehet je schopný vyrůst v době od 3 do 6 měsíců, ovšem růst nehtu je dán věkem, pohlavím, kondicí a dědičností jedince. Látky, které jsou prokazatelné v této matrici, jsou amfetaminy, kanabinoidy, opiáty, benzodiazepiny, kokain a methadon [58]. Izolace látek z nehtů je ale časově a pracovně náročnější [61].

Postup zpracování vzorku nehtů je srovnatelný s postupem zpracování vzorku vlasů. Je tedy potřeba nejdříve nehty dekontaminovat, rozmělnit na malé segmenty, hydrolyzovat a extrahovat pomocí LLE nebo SPE. Následuje případná derivatizace a vlastní proměření vhodnou potvrzující metodou [49]. Gramáž vzorku nehtů by měla být kolem 20 mg. Dekontaminace probíhá pomocí ultrazvuku a jako dekontaminační činidlo slouží methanol či aceton. Hydrolýza může být zvolena alkalická, kyselá či methanolická [58]. Souhrn konkrétních postupů analýzy vzorků nehtů je uveden v tabulce 3.

^s Tween 20 – přípravek k povrchové sterilizaci, polyoxyethylensorbitanmonolaurát

5.5 STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK VE SLINÁCH

Analýza slin skýtá mnohé výhody, mezi něž se řadí snadné odebrání vzorků, nemožnost falšovat poskytovaný vzorek, množství látek ve slinách je srovnatelné s množstvím přítomným v krvi a látky se zde nacházejí ve formě původní nikoli ve formě metabolitů [44]. Díky vývoji nových analytických metod a svým již zmíněným výhodám, jsou sliny stále častěji používanou maticí k detekci zneužívaných látek. Množství přítomných látek závisí na jejich schopnosti vázat se na bílkoviny obsažených ve slinách. Z této alternativní matrice lze zjistit opioidy [31].

Vzorky slin není nutné zdlouhavě upravovat, jako tomu je u vzorku vlasů nebo nehtů. Zakoncentrování stanovovaných látek ve vzorku je prováděno prostřednictvím LLE nebo SPE. Na odstranění bílkovin je potřeba provést centrifugaci [12, 62]. Souhrn konkrétních postupů analýzy vzorků slin je uveden v tabulce 4.

5.6 STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V MEKONIU

Mekonium, obdobně jako vlasy novorozence, skrývají určitou historii užívání nebezpečných látek během těhotenství, neboť se tvoří již ve druhém a třetím trimestru [1]. Bývá snadněji k dispozici než například vlasy [31]. Vzorek mekonie je odebrán 1 – 5 dní po porodu. Existuje zde možnost kontaminace mekonie močí, což je potřeba při stanovení brát v potaz [49]. Rozhodující faktory pro ukládání látek v mekoniu je velikost molekul, lipofilita, ionizace a míra vazby na plazmatické bílkoviny.

Význam analýzy mekonie je prostý. Omamné a psychotropní látky negativně ovlivňují vývoj a růst plodu, proto je možné ihned po rozboru mekonie zahájit vhodnou léčbu, aby se co nejvíce předešlo možným dopadům [63].

Vhodná navážka mekonie se pohybuje okolo 0,5 - 1 g, která je nejprve podrobena homogenizaci [31, 49]. Používanými homogenizačními činidly bývá methanol nebo směs methanolu a acetonitrilu [49]. Vzhledem k přítomnosti velkého počtu bílkovin, lipidů a pigmentů, je dále nutná centrifugace [46]. Kapalina nad sedimentem je dále odpařena a zbytek rozpuštěn ve vhodném pufru. Následuje SPE popř. LLE a v některých případech ještě derivatizace [49]. Souhrn konkrétních postupů analýzy vzorků mekonie je uveden v tabulce 5.

5.7 STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V POTU

I pot, jakožto netradiční matrice, začíná v dnešní době nabývat na významu, zvláště v situacích, kdy je potřeba určit zda nedošlo například k řízení pod vlivem omamných látek nebo k užívání těchto látek na pracovišti. Určení ilegálních látek v potu lze až 2 týdny po expozici.

Odběr vzorků se provádí pomocí speciálních náplastí. Ty jsou vyrobené z absorpční buničiny a tenké polyuretanové membrány, která umožňuje výměnu plynů, jako je oxid uhličitý, kyslík a vodní pára. Léky a drogy zůstanou uvnitř buničiny. Ukládání těchto látek v potu je dáno nižším pH, než je pH krve. Dále pak jejich charakterem a mírou lipofility. V potu lze detekovat látky, jako jsou opioidy, amfetaminy, kokain, methadon a kanabinoidy [64]. Postup analýzy vzorků potu je srovnatelný se vzorky slin [31]. Souhrn konkrétních postupů analýzy vzorků potu je uveden v tabulce 6.

5.8 STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK V MOZKU

Analýza mozkové tkáně může poskytnout velmi hodnotné informace k objasnění příčiny úmrtí ať už nenarozeného dítěte nebo jiného jedince [48]. Matrice mozkové tkáně ukrývá další výhody. V případě úmrtí se mozek začíná rozkládat, na rozdíl od krve, s určitým zpožděním, a tudíž látky v něm obsažené zde setrvávají delší dobu, po kterou jsou k dispozici analytickým rozborům [56].

Pro izolaci návykových látek z mozkové tkáně je používána LLE resp. SPE, která je díky snadnému použití a vyšší selektivitě výhodnější. Je zapotřebí vzorek také centrifugovat. Z potvrzujících metod se pak využívá LC a GC s detekcí MS [48]. Souhrn konkrétních postupů analýzy vzorků mozku je uveden v tabulce 7.

Tabulka 2 – Přehled možných způsobů stanovení zakázaných látek ve vlasech

Drogy	Dekontaminace	Hydrolyzáza/extrakce	Metody	Literatura
Opioidy, amfetaminy, extáze, kokain	2 ml CH ₂ Cl ₂	1 ml 0,1 M HCl (1 hod, 100 °C); 1 ml acetátového pufru (pH = 5,5); SPE (HCX)	Derivatizace 50 µl MSTFA v 1 % TMCS (30 min, 65 °C); GC/MS	[52]
Benzodiazepiny	2 ml isooktanu, 2 ml acetonu	Ultrazvuk (1 hod); 1,5 ml fosfátového pufru (pH = 8,4; přes noc, 37 °C); 5 ml CH ₂ Cl ₂ /diethylether (9:1, v/v, 15 min)	LC/HRMS (Luna C18)	[38]
Kokain a jeho metabolity	2 ml CH ₂ Cl ₂ , 3x 10 ml 0,01 M fosfátového pufru (pH = 6, 15 min), 2 ml 2-propanolu (2 min), 2 ml CH ₂ Cl ₂	2 ml 0,1 M HCl (12 hod, 50 °C); SPE (Oasis MCX)	LC-MS/MS (HILIC)	[11]
Amfetaminy, kokain	20 ml 0,03 % Tween 20	1 ml 0,1 M HCl (přes noc, 45 °C); neutralizace NaOH	CE-TOF-MS	[60]
Kokain, morfin, kodein, amfetaminy a jejich deriváty	15 ml 0,1 % dodecylsulfátu sodného, 15 ml vody, 15 ml acetonu	0,5 ml CH ₃ OH/CH ₃ CN/20 mM HCOONH ₄ (25:25:50, v/v/v)	Nano-HPLC-chip-MS/MS	[59]
Benzodiazepiny	2x 5 ml CH ₂ Cl ₂	Ultrazvuk s 1 ml fosfátového pufru (pH = 8,4; 1 hod, pokojová teplota); LLE s 3 ml CH ₂ Cl ₂	LC-MS/MS	[65]
Amfetaminy a jejich metabolity	CH ₃ CH ₂ OH, 2x CH ₂ Cl ₂ (5 min);	1 M NaOH (15 min, 80 °C); LLE s 3 ml hexanu/ethylacetátu (2:1, v/v, 10 min)	LC-ESI-MS/MS	[66]

Tabulka 3 - Přehled možných způsobů stanovení zakázaných látek v nehtech

Drogy	Dekontaminace	Hydrolyza/extrakce	Derivatizace	Metody	Literatura
Amfetaminy, ketamin	5 ml vody, 2x 5 ml CH ₃ OH	1 ml 1 M NaOH (30 min, 95 °C); 3 ml ethylacetátu (10 min)	50 µl HFBA a 50 µl ethylacetátu (30 min, 60 °C)	GC/MS	[58]
Amfetaminy, efedrin, meskalin	5 ml vody, 3x 5 ml CH ₃ OH	Rozprašování (10 min, 30 Hz); 1,2 ml CH ₃ OH; ultrazvuk (1 hod, 50 °C)	50 µl HFBA a 50 µl ethylacetátu (30 min, 60 °C);	GC/MS	[61]
Benzodiazepiny	CH ₃ CH ₂ OH	TFA/CH ₃ OH (1:50, v/v); LLE s CH ₂ Cl ₂		LC-MS/MS	[49]
Morfin	Ultrazvuk s povrchově aktivní látkou, vodou a CH ₃ OH	1 M NaOH; LLE s CH ₂ Cl ₂ /CH ₂ CH ₂ Cl ₂ /heptan (19:18:63, v/v/v)		RIA, HPLC	[49]
Morfin, methadon	0,1 M HCl; SPE (Bond Elut Certify)	BSTFA v 1% TMCS		GC/MS-EI	[31]

Tabulka 4 - Přehled možných způsobů stanovení zakázaných látek ve slinách

Drogy	Hydrolýza/extrakce	Derivatizace	Metoda	Literatura
Amfetaminy, halucinogeny, ketamin, kokain		SPE (OMIX C18)	HPLC-MS/MS	[62]
Benzodiazepiny		Pouze centrifugace	IMS	[44]
Benzodiazepiny	2 ml fosfátového pufru (pH = 4,1); SPE (Isolute HXC)	60 µl CH ₃ CN/MTBSTFA (4:2, v/v; 30 min, 85 °C)	GC/MS-EI	[67]
Amfetaminy a jejich deriváty		NaHCO ₃ , 50 µl alkalického pufru, 70 µl toluen/HFBA (100:4, v/v)		
Opioidy, kokain		80 µl CH ₃ CN/MSTFA (6:2, v/v)		
Opioidy	1 ml 1 M fosfátového pufru (pH = 6, Toxitube A, 10 min)	40 µl BSTFA v 1 % TMCS (20 min, 100 °C)	GC/PCI-MS	[68]
Kokain a jeho metabolity		0,1 M fosfátový pufr; SPE (Bond Elut Certify); HCl/CH ₃ OH (35 °C)	HPLC-TOF	[12]
Amfetaminy, methadon, kokain, kanabinoidy		20 µl 0,1 M NaOH, 30 - 50 mg NaCl; SPME (30 µm PDMS vlákna)	GC/MS	[69]

Tabulka 5 - Přehled možných způsobů stanovení zakázaných látek v mekoniu

Drogy	Hydrolyza/extrakce	Derivatizace	Metody	Literatura
Kokain, opioidy	3 ml CH ₃ OH (20 min); 1 ml boraxového pufru (pH = 9,2); SPE (Oasis HLB)	40 µl BSTFA/TMCS (99:1, v/v; 20 min, 100 °C)	GC/MS	[63]
Kodein, kokain, morfin a jeho deriváty	4 ml CH ₃ OH (20 min); 2 ml 0,1 M fosfátového pufru (pH = 6); SPE (Bond Elut Certify); 50 µl 1 % CH ₃ COOH		LC/MS	[70]
Amfetaminy, kokain, opioidy, kanabinoidy	1 ml 1 M NaOH, 1 ml <i>n</i> -heptanu; 10 µl CH ₃ COOH	50 µl 75 mM boritanového pufru, 50 µl 20 mM DBD-F v CH ₃ CN (20 min, 80 °C)	HPLC/CL	[71]
Barbituráty	2 ml 25 % CH ₃ OH/CH ₃ CN; 30 % CH ₃ OH/fosfátový pufr (pH = 9, v/v); SPE (Oasis HLB)		CE/UV	[46]
Kokain, morfin, kanabinoidy	CH ₃ OH		ELISA	[31]

Tabulka 6 - Přehled možných způsobů stanovení zakázaných látek v potu

Drogy	Hydrolýza/extrakce	Derivatizace	Metody	Literatura
Kokain, methadon a jejich deriváty	2x 6 ml 0,5 M CH ₃ COONa (pH = 4, 10 min); SPE (ZSDAU020)	35 µl BSTFA v 1 % TMCS (20 min, 60 °C)	GC/MS	[64]
Opioidy	Pufr (pH = 5, CH ₃ OH/25 % 0,2 M CH ₃ COONa)		ELISA, GC/MS	[31]
Amfetaminy, kokain	SPE (MP1); triethylamin v CH ₂ Cl ₂ ; (CH ₃ CO) ₂ O; PFPOH		GC/MS-EI	[31]

Tabulka 7 - Přehled možných způsobů stanovení zakázaných látek v mozku

Drogy	Úprava vzorku	Metody	Literatura
Opioidy, kokain a jejich metabolity	5 ml Ca ₃ (PO ₄) ₂ (pH = 6; 2 min); SPE (ZSDAU020); 100 µl 1 % HCl/CH ₃ OH (v/v, 40 °C)	HPLC	[48]
Zneužívaná antidepresiva	2 ml CH ₃ CN, 0,5 ml 1 M K ₂ CO ₃ (pH = 9,5); 25 mM fosfátový pufr (pH = 2,5); SPE (SCX); derivatizace s 50 µl HFBI (30 min, 85 °C)	GC/MS-PCI	[56]
Morfin a jeho deriváty	Srážení s CH ₃ CN/CH ₃ OH (85:15, v/v)	LC/MS-MS	[31]

6 ZÁVĚR

Omamné a psychotropní látky způsobují fyzické i psychické změny v lidském organismu a jsou zákonem zakázány. K porušování zákonů dochází užíváním a distribucí těchto látek. Pod jejich vlivem mohou být páčány další trestné činy a přestupky, které je potřeba zpětně dokázat. Důkazy o zneužívání ilegálních látek poskytuje analýza biologických matric, resp. analýza matric netradičních. Matrice jako vlasy, nehty, sliny, pot, mekonium popř. mozek, uchovávají ve své struktuře zneužitě látky po delší dobu než je tomu např. u krve nebo moči. Obzvláště ve strukturách vlasů, nehtů a mekonia je možné látky dokázat až několik měsíců po expozici, což je velmi přínosné. Další výhodou je odběr vzorků matric, který je snadný a nebolestivý. Netradiční matrice tak nabývají neustále na významnosti, jsou perspektivní a čím dál více využívány. Avšak úprava vzorků bývá náročnější než u klasických matric biologického původu.

Pevné vzorky, jako vlasy a nehty, je potřeba nejprve dekontaminovat, aby se zabránilo falešným výsledkům v důsledku kontaminace z vnějšího prostředí. Dále se u všech druhů matric provádí hydrolýza, díky které dochází k uvolňování stanovovaných látek ze struktur matric. Hydrolýza je využívána alkalická, kyselá či enzymatická. Ze vzniklých směsí je nutné odstranit zbytky matric a roztoky zakoncentrovat. K těmto účelům se využívají extrakční techniky, z nichž nejpoužívanější je extrakce z kapaliny do kapaliny a extrakce tuhou fází. Před vlastní analýzou je v některých případech prováděna derivatizace.

Pro vlastní stanovení jsou využívány kvalitativní „screeningové“ metody, které bývají doplňovány kvantitativními potvrzovacími metodami. Široce aplikovatelnými „screeningovými“ metodami jsou imunologické testy, které jsou snadno proveditelné a provozně ekonomicky přijatelné. Jejich velkou nevýhodou je časová náročnost vývoje a specifické použití. Méně známou a využívanou „screeningovou“ metodou je iontová mobilní spektrometrie, která vykazuje přesné výsledky. Nejpoužívanějšími potvrzovacími technikami jsou chromatografické metody obvykle v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Chromatografie s vhodným detekčním systémem poskytují přesné a citlivé výsledky. Stejně citlivé výsledky poskytují i metody kapilární elektroforézy, které dále disponují krátkým časem provedení.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BSTFA	<i>N,O</i> -bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid
CE	Kapilární elektroforéza
CL	Chemiluminiscence
CNS	Centrální nervová soustava
DBD-F	4-(<i>N,N</i> -dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazol
EI	Elektronová ionizace
ELISA	Enzymatická imunologická analýza
ESI	Elektrosprejová ionizace
GC	Plynová chromatografie
HFBA	Anhydrid kyseliny heptafluoromáselné
HFBI	1-(heptafluorobutyryl)imidazol
HPLC	Vysoko účinná kapalinová chromatografie
HRMS	Hmotností spektrometrie s vysokým rozlišením
IMS	Iontová mobilní spektrometrie
LC	Kapalinová chromatografie
LLE	Extrakce z kapaliny do kapaliny
MS	Hmotnostní spektrometrie
MS/MS	Tandemová hmotnostní spektrometrie
MSTFA	Mono(trimethylsilyl)trifluoracetamid
MTBSTFA	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(<i>tert</i> -butyldimethylsilyl)trifluoracetamid
PCI	Pozitivní chemická ionizace
PDMS	Polydimethylsiloxan
PFPOH	Pentafluoropropanol

SFE	Superkritická fluidní extrakce
SIM	Monitorování vybraných iontů
SPE	Extrakce tuhou fází
SPME	Mikroextrakce tuhou fází
TFA	Trifluoroctová kyselina
TMCS	Trimethylchlorsilan
TOF	Průletový analyzátor

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Wong S., Ordean A., Kahan M.; *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 2011; 114: 190-202.
- [2] van Amsterdam J., Opperhuizen A., van den Brink W.; *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2011; 59: 423-429.
- [3] Kennare R., Heard A., Chan A.; *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2005; 45: 220-225.
- [4] Binelli A., Pedriali A., Riva C., Parolini M.; *Chemosphere*, 2012; 86: 906-911.
- [5] Kasprzyk-Hordern B., Baker D. R.; *Environmental Science and Technology*, 2012; 46: 1681-1691.
- [6] de la Torre R., Farré M., Navarro M., Pacifici R., Zuccaro P., Pichini S.; *Clinical Pharmacokinetics*, 2004; 43(3): 157-185.
- [7] Chakraborty K., Neogi R., Basu D.; *Indian Journal of Medical Research*, 2011; 133: 594-604.
- [8] Fotouhi L., Yamini Y., Molaei S., Seidi S.; *Journal of Chromatography A*, 2011; 1218: 8581-8586.
- [9] Lasáková M., Thiébaud D., Jandera P., Pichon V.; *Journal of Separation Science*, 2009; 32: 1036-1042.
- [10] Varner K. J., Hein N. D., Ogden B. A., Arsenault J. R., Carter K. M., Soine W. H.; *Drug and Alcohol Dependence*, 2001; 64: 299-307.
- [11] Quintela O., Lendoiro E., Cruz A., de Castro A., Quevedo A., Jurado C., López-Rivadulla M.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010; 396: 1703-1712.

- [12] Janicka M., Kot-Wasik A., Namieśnik J.; *Trends in Analytical Chemistry*, 2010; 29 (3): 209-224.
- [13] Peele S., Degrandpre R. J.; *Addiction Research*, 1998; 6(3): 235-263.
- [14] Mejías-Aponte C. A., Kiyatkin E. A.; *Neuroscience*, 2012; 207: 182-197.
- [15] Treweek J. B., Janda K. D.; *Molecular Pharmaceutics*, 2012; 9: 969-978.
- [16] Kranaster L., Kammerer-Ciernioch J., Hoyer C., Sartorius A.; *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 2011; 261: 575-582.
- [17] Bergman S. A.; *Anesthesia Progress*, 1999; 46: 10-20.
- [18] Halberstadt A. L., Geyer M. A.; *Neuropharmacology*, 2011; 61: 364-381.
- [19] Ondra P., Zedníková K., Válka I.; *Neuro Endocrinology Letters*, 2006; 27(2): 125-129.
- [20] Johnson, M. W., MacLean K. A., Reissig Ch. J., Prisinzano T. E., Griffiths R. R.; *Drug and Alcohol Dependence*, 2011; 115: 150-155.
- [21] Schmidt M. S., Prisinzano T. E., Tidgewell K., Harding W., Butelman E. R., Kreek M. J., Murry D. J.; *Journal of Chromatography B*, 2005; 818: 221-225.
- [22] Addy P. H.; *Psychopharmacology*, 2012; 220: 195-204.
- [23] Kirsten T. B., Bernardi M. M.; *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 2010; 20 (3): 397-402.
- [24] Griffiths R. R., Johnson M. W., Richards W. A., Richards B. D., McCann U., Jesse R.; *Psychopharmacology*, 2011; 218: 649-665.
- [25] Carstairs S. D., Cantrell F. L.; *Clinical Toxicology*, 2010; 48: 350-353.
- [26] Beyer J., Drummer O. H., Maurer H. H.; *Forensic Science International*, 2009; 185: 1-9.
- [27] Meyer M. R., Maurer H. H.; *Pharmacy and Pharmacology*, 2011; 12 (2): 215-233.
- [28] Pietsch J., Schulz K., Körner B., Trauer H., Dreßler J., Gey M.; *Chromatographia*, 2004; 60: 89-92.
- [29] Grossman L., Utterback E., Stewart A., Gaikwad S., Chung K. M., Suciú Ch., Wong K., Elegante M., Elkhayat S., Tan J., Gilder T., Wu N., DiLeo J., Cachat J., Kalueff A. V.; *Behavioural Brain Research*, 2010; 214: 277-284.
- [30] Canezin J., Cailleux A., Turcant A., Le Bouil A., Harry P., Allain P.; *Journal of Chromatography B*, 2001; 765: 15-27.
- [31] Barroso M., Gallardo E., Vieira D. N., Queiroz J. A., López-Rivadulla M.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011; 400: 1665-1690.

- [32] Westerling D., Säwe J., Eklundh G.; *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 1998; 42: 586-589.
- [33] Shishehbore M. R., Zare H. R., Nematollahi D.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2012; 665: 45-51.
- [34] Hummel D., Löffler D., Fink G., Ternes T. A.; *Environmental Science and Technology*, 2006; 40: 7321-7328.
- [35] Enggaard T. P., Poulsen L., Arendt-Nielsen L., Hansen S. H., Bjørnsdottir A., Gram L. F., Sindrup S. H.; *Pain*, 2001; 92: 277-282.
- [36] Ebrahimzadeh H., Mehdinia A., Kamarei F., Moradi E.; *Chromatographia*, 2012; 75: 149-155.
- [37] Mercolini L., Mandrioli R., Conti M., Leonardi C., Gerra G., Raggi M. A.; *Journal of Chromatography B*, 2007; 847: 95-102.
- [38] Vogliardi S., Favretto D., Tucci M., Stocchero G., Ferrara S. D.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011; 400: 51-67.
- [39] Salomone A., Gerace E., Brizio P., Gennaro M. C., Vincenti M.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011; 56: 582-591.
- [40] Ming D. S., Heathcote J.; *Journal of Chromatography B*, 2011; 879: 421-428.
- [41] Kim J., Lee S., In S., Choi H., Chung H.; *Journal of Chromatography B*, 2011; 879: 878-886.
- [42] Tyszczyk K.; *Electroanalysis*, 2010; 22 (17-18): 1975-1984.
- [43] Panhelainen A. E., Korpi E. R.; *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2012; 101: 115-124.
- [44] Armenta S., Blanco M.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011; 401: 1935-1948.
- [45] Wang Q.-L., Fan L.-Y., Zhang W., Cao C.-X.; *Analytica Chimica Acta*, 2006; 580: 200-205.
- [46] Delinsky D. C., Srinivasan K., Solomon H. M., Bartlett M. G.; *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 2002; 25 (1): 113-123.
- [47] Zhao H., Wang L., Qiu Y., Zhou Z., Zhong W., Li X.; *Analytica Chimica Acta*, 2007; 586: 399-406.
- [48] Shakleya D. M., Huestis M. A.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009; 393: 1957-1965.
- [49] Madej K. A.; *Trends in Analytical Chemistry*, 2010; 29 (3): 246-259.

- [50] Kintz P., Evans J., Villain M., Cirimele V.; *Forensic Science International*, 2010; 196: 51-54.
- [51] Nakahara Y.; *Journal of Chromatography B*, 1999; 733: 161-180.
- [52] de la Torre R., Civit E., Svaizer F., Lotti A., Gottardi M., Miozzo M.; *Forensic Science International*, 2010; 196: 18-21.
- [53] Srogi K.; *Microchimica Acta*, 2006; 154: 191-212.
- [54] Srogi K.; *Analytical Letters*, 2006; 39: 231-258.
- [55] McDowall R. D.; *Journal of Chromatography*, 1989; 492: 3-58.
- [56] Wille S. M. R., De Letter E. A., Piette M. H. A., Van Overschelde L. K., Van Peteghem C. H., Lambert W. E.; *International Journal of Legal Medicine*, 2009; 123: 451-458.
- [57] Butler D., Guilbault G. G.; *Analytical Letters*, 2004; 37 (10): 2003-2030.
- [58] Kim J. Y., Shin S. H., In M. K.; *Forensic Science International*, 2010; 194: 108-114.
- [59] Zhu K. Y., Leung K. W., Ting A. K. L., Wong Z. C. F., Ng W. Y. Y., Choi R. C. Y., Dong T. T. X., Wang T., Lau D. T. W., Tsim K. W. K.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012; 402: 2805-2815.
- [60] Gottardo R., Fanigliulo A., Bortolotti F., de Paoli G., Pascali J. P., Tagliaro F.; *Journal of Chromatography A*, 2007; 1159: 190-197.
- [61] Kim J. Y., Cheong J. Ch., Lee J. I., Son J. H., In M. K.; *Journal of Forensic Sciences*, 2012; 57 (1): 228-233.
- [62] Sergi M., Compagnone D., Curini R., D'Ascenzo G., Del Carlo M., Napoletano S., Risoluti R.; *Analytica Chimica Acta*, 2010; 675: 132-137.
- [63] López P., Bermejo A. M., Tabernero M. J., Fernández P., Álvarez I.; *Journal of Applied Toxicology*, 2007; 27: 464-471.
- [64] Brunet B. R., Barnes A. J., Scheidweiler K. B., Mura P., Huestis M. A.; *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008; 392: 115-127.
- [65] Xiang P., Sun Q., Shen B., Chen P., Liu W., Shen M.; *Forensic Science International*, 2011; 204: 19-26.
- [66] Chéze M., Deveaux M., Martin C., Lhermitte M., Pépin G.; *Forensic Science International*, 2007; 170: 100-104.
- [67] Gunnar T., Ariniemi K., Lillsunde P.; *Journal of Mass Spectrometry*, 2005; 40: 739-753.
- [68] Cámpora P., Bermejo A. M., Tabernero M. J., Fernández P.; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006; 20: 1288-1292.

- [69] Fucci N., De Giovanni N., Chiarotti M.; *Forensic Science International*, 2003; 134: 40-45.
- [70] Pichini S., Pacifici R., Pellegrini M., Marchei E., Pérez-Alarcón E., Puig C., Vall O., García-Algar O.; *Journal of Chromatography B*, 2003; 794: 281-292.
- [71] Wada M., Sugimoto Y., Ikeda R., Isono K., Kuroda N., Nakashima K.; *Forensic Toxicology*, 2012; 30: 80-83.

9 SEZNAM POUŽITÝCH INTERNETOVÝCH ZDROJŮ

- (1) *Ministerstvo vnitra* [online]; 13. 8. 2004 [cit. 15. 4. 2012]; Sbírka zákonů a Sbírka mezinárodních smluv; dostupné z http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=466/2004&typeLaw=zakon&what=Cislo_za_kona_smlouvy.
- (2) *Ministerstvo vnitra* [online]; 15. 7. 1998 [cit. 15. 4. 2012]; Sbírka zákonů a Sbírka mezinárodních smluv; dostupné z http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=167/1998&typeLaw=zakon&what=Cislo_za_kona_smlouvy.
- (3) *Ministerstvo vnitra* [online]; 25. 5. 2009 [cit. 15. 4. 2012]; Sbírka zákonů a Sbírka mezinárodních smluv; dostupné z http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=141/2009&typeLaw=zakon&what=Cislo_za_kona_smlouvy.
- (4) *Ministerstvo vnitra* [online]; 22. 4. 2011 [cit. 10. 5. 2012]; Sbírka zákonů a Sbírka mezinárodních smluv; dostupné z http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=106/2011&typeLaw=zakon&what=Cislo_za_kona_smlouvy.