

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Kristýna Hejnochová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Stanovení a analýza *N,N*-dimethyltryptaminu v rostlinných a
biologických matricích
Bakalářská práce

2023

Kristýna Hejnochová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Kristýna Hejnochová
Osobní číslo: C20182
Studijní program: B0512A130006 Analýza biologických materiálů
Téma práce: Stanovení a analýza *N,N*-dimethyltryptaminu v rostlinných a biologických matricích
Téma práce anglicky: Determination And Analysis Of *N,N*-dimethyltryptamine In Plant And Biological Matrices
Zadávací katedra: Katedra biologických a biochemických věd

Zásady pro vypracování

Vypracujte literární rešerši zabývající se *N,N*-dimethyltryptaminem. Zaměřte se na obecné informace jako například chemické, fyzikální a dále na jeho syntézu a účinky na lidský organismus včetně jeho potenciálního terapeutického využití. Současně popište možnosti extrakce jak z rostlinných, tak i biologických matric a podrobně se zaměřte na jeho analýzu.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Petra Bajerová, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem „Stanovení a analýza *N,N*-dimethyltryptaminu v rostlinných a biologických matricích“ 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 30. 6. 2023

Kristýna Hejnochová

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda poděkovala prof. Ing. Petře Bajerové, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce a za cenné a užitečné rady při jejím psaní.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině a příteli za podporu během celého studia.

ANOTACE

Tato práce se zabývá *N,N*-dimethyltryptaminem, což je velmi silné endogenní serotonergní psychedelikum. První část je věnována teoretickým poznatkům, jako je historie, výskyt, chemické, fyzikální a farmakologické vlastnosti. Dále se práce věnuje jeho účinkům na organismus, způsobům užívání a potenciálním využitím v psychoterapii. Druhá část je věnována jeho izolaci a stanovení v biologických a rostlinných matricích.

KLÍČOVÁ SLOVA

N,N-dimethyltryptamin, DMT, stanovení, analýza, biologické a rostlinné matrice, extrakce, LLE, LSE, SPE, SPME, MSPD, HF-LPME, UAE, GC-MS, LC-MS, NMR, IR

TITLE

Determination and analysis of *N,N*-dimethyltryptamine in plant and biological matrices

ANNOTATION

This paper deals with *N,N*-dimethyltryptamine, a very potent endogenous serotonergic psychedelic. The first part is devoted to theoretical background such as history, occurrence, chemical, physical and pharmacological properties. Then the thesis deals with its effects on the organism, methods of use and potential applications in psychotherapy. The second part is devoted to its isolation and determination in biological and plant matrices.

KEYWORDS

N,N-dimethyltryptamine, DMT, determination, analysis, biological and plant matrices, extraction, LLE, LSE, SPE, SPME, MSPD, HF-LPME, UAE, GC-MS, LC-MS, NMR, IR

OBSAH

SEZNAM TABULEK.....	10
SEZNAM ILUSTRACÍ.....	11
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK.....	12
TERMINOLOGIE	15
ÚVOD	17
1 TEORETICKÉ POZNATKY O <i>N,N</i> -DIMETHYLTRYPTAMINU	18
1.1 Obecné informace a historie	18
1.2 Výskyt.....	19
1.3 Přítomnost a úloha v lidském organismu	21
1.3.1 Přítomnost.....	21
1.3.2 Úloha	21
1.4 Chemické a fyzikální vlastnosti.....	22
1.4.1 Chemické vlastnosti.....	22
1.4.2 Fyzikální vlastnosti.....	23
1.5 Syntéza	24
1.5.1 Biosyntéza	24
1.5.2 Chemická syntéza.....	25
1.6 Farmakologické vlastnosti	26
1.6.1 Farmakodynamika.....	26
1.6.2 Farmakokinetika	28
1.7 Účinky na organismus.....	32
1.7.1 Fyziologické	32
1.7.2 Psychologické	32
1.8 Užívání.....	33
1.8.1 Rekreační užívání	33
1.8.2 Rituální užívání	33
1.9 Potenciální využití v psychoterapii	35
1.9.1 Léčba deprese.....	35

1.9.2	Léčba úzkosti.....	36
1.9.3	Léčba závislosti.....	36
1.9.4	DMT jako model psychiatrických poruch.....	37
2	METODY EXTRAKCE A STANOVENÍ.....	38
2.1	Metody extrakce a stanovení DMT z rostlinných matric.....	38
2.1.1	Rostlinné matrice.....	38
2.1.2	Metody extrakce z rostlinných matric.....	38
2.1.3	Metody stanovení.....	43
2.1.4	Postup úpravy vzorků, extrakce a stanovení dle jednotlivých autorů pro rostlinné matrice.....	45
2.2	Metody izolací a stanovení DMT z biologických matric.....	48
2.2.1	Biologické matrice.....	48
2.2.2	Metody izolací z biologických matric.....	48
2.2.3	Metody stanovení z biologických matric.....	50
2.2.4	Postup úpravy vzorků, extrakce a stanovení dle jednotlivých autorů pro biologické matrice.....	51
	ZÁVĚR.....	54
	POUŽITÁ LITERATURA.....	55
	SEZNAM PŘÍLOH.....	65
	PŘÍLOHA A: Vybraná spektra DMT.....	66

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Přibližný obsah DMT ve vybraných rostlinách [10]	20
Tabulka 2 Vzhled a rozpustnost DMT ve vybraných rozpouštědlech.....	24
Tabulka 3 Hodnoty vybraných fyzikálních vlastností DMT	24
Tabulka 4 Základní informace o kohortách a podané dávky DMT (převzato a upraveno z [20])	30
Tabulka 5 Základní farmakokinetické parametry (průměrné) pro jednotlivé kohorty (převzato a upraveno z [20])	30
Tabulka 6 Přehled použitelných rozpouštědel pro extrakci DMT (převzato a upraveno z [57])	39
Tabulka 7 Přehled metod izolace a stanovení DMT z rostlinných matric	47
Tabulka 8 Porovnání metod kapalinové chromatografie (převzato a upraveno z [75, 77–79])	50
Tabulka 9 Přehled metod izolace a stanovení DMT z biologických matric	52

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 Strukturní vzorce vybraných tryptaminů (převzato a upraveno z [1])	18
Obrázek 2 Lata Chrastice rákosovité (vlevo) a porost Chrastice rákosovité (vpravo) (převzato z [12])	21
Obrázek 3 Chemické vlastnosti DMT [autorka]	23
Obrázek 4 Biosyntéza DMT (převzato a upraveno z [2])	25
Obrázek 5 Reduktivní deaminace (převzato a upraveno z [2])	25
Obrázek 6 Vícekroková syntéza DMT (převzato a upraveno z [2])	26
Obrázek 7 Syntéza DMT aminací 3-(2-bromethyl)indolu (převzato a upraveno z [26])	26
Obrázek 8 Graf závislosti plazmatické koncentrace DMT na čase (převzato a upraveno z [19])	30
Obrázek 9 Schéma biotransformací DMT (převzato a upraveno z [19])	31
Obrázek 10 Typické složky Ayahuascy - Psychotria viridis (A) a Banisteriopsis caapi (B, C), (převzato z [19])	34
Obrázek 11 Aparatura pro LLE s dělicí nálevkou [autorka]	39
Obrázek 12 Schéma Soxhletova extraktoru pro LSE (převzato a upraveno z [55])	40
Obrázek 13 Držák vlákna SPME (a), průřez sestavou vlákna SPME (b) (převzato a upraveno z [59])	41
Obrázek 14 Postup extrakce vzorku metodou MSPD (převzato a upraveno z [61])	42
Obrázek 15 Provedení UAE – a) ultrazvuková lázeň, b) ultrazvuková sonda (převzato a upraveno z [62])	43
Obrázek 16 Postup extrakce tuhou fází (převzato a upraveno z [73])	48
Obrázek 17 Provedení HF-LPME, a) dvoufázová HF-LPME, b) třífázová HF-LPME (převzato a upraveno z [76])	49
Obrázek 18 Testovací sady k rychlému stanovení DMT ve slinách a v moči (převzato z [84])	53
Obrázek 19 Hmotnostní spektrum DMT (GC-MS/MS, SRM mód) (a), bližší detail části spektra (b)	66
Obrázek 20 ¹ H-NMR spektrum DMT	66
Obrázek 21 ¹³ C-NMR spektrum DMT	67
Obrázek 22 IR spektrum DMT (měřeno metodou FTIR)	67

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

^{13}C -NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
^1H -NMR	proton Nuclear Magnetic Resonance
2-Me-IAA	kyselina 2-methylindol-3-octová (2-methylIndole-3-Acetic Acid)
2-MTHBC	2-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin
5-HT	5-hydroxytryptamin
5-MeO-DMT	5-methoxy- <i>N,N</i> -dimethyltryptamin
6-hydroxy-IAA	6-hydroxyindolooctová kyselina
AADC	dekarboxyláza aromatických L-aminokyselin
c_M (DMT)	hmotnostní koncentrace DMT
CNS	centrální nervová soustava
CYP	cytochrom P
DCM	dichlormethan
DI-SPME	přímá mikroextrakce tuhou fází (Direct Immersing Solid Phase Micro Extraction)
DMT	<i>N,N</i> -dimethyltryptamin
DMT-d6	deuterovaný <i>N,N</i> -dimethyltryptamin
DMT-NO	<i>N,N</i> -dimethyltryptamin- <i>N</i> -oxid
FTIR	infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací (Fourier Transformation Infra Red spectrometry)
FTIR/ATR	infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací v režimu zeslabeného totálního odrazu (Fourier Transformation Infra Red spectrometry / Attenuated Total Reflectance)
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem jako detektorem (Gas Chromatography-Mass Spectrometer)
GIT	gastrointestinální trakt
HF-LPME	mikroextrakce využívající duté vlákno (Hollow Fiber Liquid Micro Extraction)

HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
HS-SPME	headspace mikroextrakce tuhou fází (Head Space Solid Phase Micro Extraction)
i.m.	intramuskulární
i.p.	intraperitoneální
i.v.	intravenózní
INMT	indoethylamin <i>N</i> -methyltransferáza
IR	infračervená spektrometrie (Infra Red spectrometry)
LAH	lithium aluminium hydrid (tetrahydridohlinitan lithný)
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem jako detektorem (Liquid Chromatography-Mass Spectrometer)
LLE	extrakce kapalina-kapalina (Liquid-Liquid Extraction)
LOD	limit detekce (Limit Of Detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (Limit Of Quantification)
LSD	diethylamid kyseliny lysergové (LysergSäureDiethylamid)
LSE	extrakce kapalina-pevná látka (Liquid-Solid Extraction)
MAO	monoaminoxidáza
MAO-I	inhibitory monoaminoxidázy
MDPA	3,4-methylendioxypropylamfetamin
MES-d9	deuterovaný meskalin
MSPD	matricová disperze tuhou fází (Matrix Solid Phase Dispersion)
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartát
NMR	nukleární magnetická rezonance (Nuclear Magnetic Resonation)
NMT	<i>N</i> -methyltryptamin
SAM	S-adenosylmethionin
SERT	serotoninový transportér

SLM	kapalná membrána na tuhém nosiči (Supported Liquid Membranes)
SPE	extrakce tuhou fází (Solid Phase Extraction)
SPME	mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Micro Extraction)
SRM	monitorování vybraných reakcí (Selected Reaction Monitoring)
TAAR	receptor stopových aminů (Trace Amine Associated Receptor)
THBC	1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolin
THF	tetrahydrofuran
UAE	ultrazvukem asistovaná extrakce (Ultrasound Assisted Extraction)
UHPLC	ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie (Ultra High Performance Liquid Chromatography)
VMAT2	vezikulární monoaminový transportér 2

TERMINOLOGIE

agonista	látko, která má stejné nebo podobné účinky jako tělu přirozená látka (např. hormon)
anxiogenní	vyvolávající úzkost
anxiolytické	odstraňující úzkost
biotransformace	metabolismus
cytokin	signální protein účastnící se imunitní odpovědi
desenzibilizace	snížení či ztráta citlivosti
deuterované rozpouštědlo	rozpouštědlo, ve kterém došlo k nahrazení alespoň jednoho atomu lehkého vodíku atomem těžkého vodíku
eluát	roztok, který opouští chromatografickou kolonu nebo extrakční kolonku
eluent	kapalina, kterou promýváme chromatografickou kolonu nebo extrakční kolonku
endogenní	vznikající uvnitř lidského organismu
endokrinní	týkající se žláz s vnitřní sekrecí
enterální	střevní
epifýza	šišinka mozková
eroze	proces rozrušování povrchu pevné látky
fragmentace	rozpad pevné látky na menší kusy nebo úlomky
hypoxie	nedostatečná koncentrace kyslíku ve tkáních
imploze	děj, při kterém se objem plynu (vzduchu) zborťí do sebe
intramuskulární podání	injekční aplikace látky do svalu
intraperitoneální podání	injekční aplikace látky do dutiny břišní
intravenózní podání	injekční aplikace látky do žíly
kohorta	soubor osob charakterizovaný nějakým společným znakem
log D _{7,4}	rozdělovací koeficient oktanol/voda při pH 7,4 (pH přibližně odpovídá lidské krvi)

logP	rozdělovací koeficient oktanol/voda (nezávislý na pH)
lyofilizace	sušení mrazem
lyofilizát	získaná sušina po provedení lyofilizace
MS/MS	tandemová hmotnostní spektrometrie, tj. propojení více hmotnostních spektrometrů
neuromodulátor	podskupina neurotransmiterů, podílí se na regulaci nervové aktivity
neurotransmitter	také neuromediátor, nervový přenašeč
oxidativní stres	nerovnováha mezi antioxidační kapacitou buňky a množstvím volných radikálů
parenterální	mimostřevní
psychedelika	látky měnící vědomí
psychoplastogenní	podporující mozkovou plasticitu
serotonergní	týkající se serotoninu
set	psychologické nastavení jedince
setting	místo a sociální prostředí, kde je látka užívána
sonikace	metoda narušení buněk a extrakce intracelulárního materiálu
supernatant	tekutina nad sedimentem
synestezie	prolínání smyslů
tolerance	stav při opakovaném podávání látky, důsledkem je potřeba podávání stále vyšších dávek látky pro dosažení stejného účinku
vaporizér	nástroj určený k odpařování látky a následné inhalaci
vezikul	transportní váček

ÚVOD

V posledních letech se dostávají psychedelické látky více do povědomí, a to zejména díky jejich rozšíření a stále větší oblibě mezi rekreačními uživateli. Podstatnou roli hraje také aktivní výzkum jejich použití v terapeutickém prostředí.

N,N-dimethyltryptamin (DMT) je jednou z těchto látek. Jedná se o mimořádně silné psychedelikum, které se vyznačuje velmi intenzivními, avšak krátkými halucinacemi. Na rozdíl od ostatních psychedelik, jako je diethylamid kyseliny lysergové (LSD), psilocin a psilocybin (alkaloidy halucinogenních hub), není DMT tolik rozšířené a známé.

Cílem této práce je tedy seznámit čtenáře s touto zajímavou látkou a poskytnout její ucelený přehled. Práce je rozdělena na dvě hlavní části.

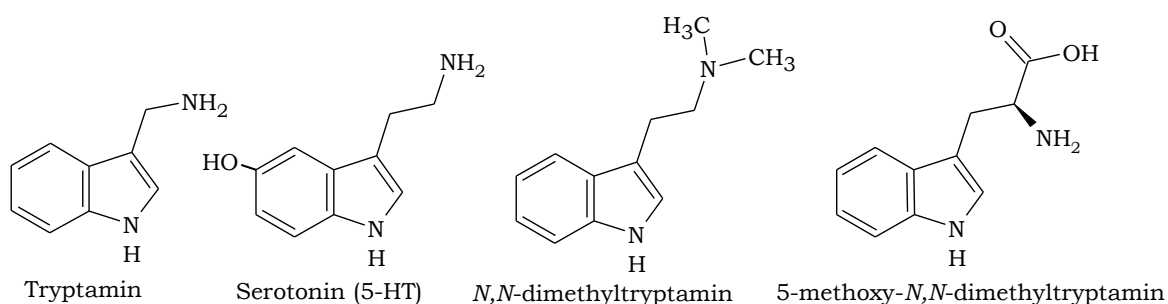
První část práce přehledně shrnuje dostupné informace o DMT, jako je jeho historie, výskyt, chemické, fyzikální a farmakologické vlastnosti. Dále jsou popsány jeho účinky, a to jak fyziologické, tak psychologické. Nechybí ani popis rekreačního a rituálního užívání. Na závěr této části je popsáno potenciální využití DMT v psychoterapii.

Ve druhé části práce jsou popsány jak extrakční metody používané k izolaci DMT z rostlinných a biologických matric, tak i metody stanovení izolovaného DMT z daných matric.

1 TEORETICKÉ POZNATKY O *N,N*-DIMETHYLTRYPTAMINU

1.1 Obecné informace a historie

N,N-dimethyltryptamin neboli DMT patří mezi klasická serotonergní psychedelika. To znamená, že jsou schopny se vázat na serotoninové receptory (5-HT receptory) a tím ovlivňovat vědomí. Svou strukturou se řadí mezi tryptaminy. Tryptamin je látka, která je odvozena od aminokyseliny tryptofanu. Mezi další tryptaminy patří například již zmíněný serotonin, diethylamid kyseliny lysergové (LSD), ibogain nebo psilocybin a psilocin. Jelikož je DMT přítomen v lidském organismu, řadíme jej mezi endogenní psychedelika. Strukturní podobnost DMT se serotoninem a dalšími tryptaminy je patrná níže (viz Obrázek 1) [1, 2].



Obrázek 1 Strukturní vzorce vybraných tryptaminů (převzato a upraveno z [1])

DMT byl poprvé syntetizován v roce 1931 kanadským chemikem Richardem Manskem, který ho syntetizoval společně s dalšími sloučeninami, jež byly obsaženy v rostlině Sazaník květnatý (*Calycanthus floridus*). V té době, a ještě několik let poté však nebyly známy halucinogenní účinky DMT, ani jeho přítomnost v rostlinách ovlivňujících vědomí. To se změnilo až po 2. světové válce, kdy se dostaly do povědomí látky jako serotonin a LSD. Díky usilovnému výzkumu těchto látek došlo i ke zvýšenému zájmu o DMT a jeho zkoumání. V roce 1942 bylo DMT izolováno z jihoamerického keře *Mimosa tenuiflora* (známého též pod názvem *Mimosa hostilis*) vědcem jménem Oswaldo Gonçalves de Lima, což vedlo k dalším izolacím DMT. V této době však nebylo

známo, zda-li má samotné DMT psychoaktivní účinky. To potvrdil až maďarský chemik a psychiatr Stephen Szára, který si DMT injekčně aplikoval a poté ho podával i několika dobrovolníkům [1, 3].

V následujících letech se DMT dostalo do zájmu dalších vědců. V porovnání s LSD se mu však v odborné společnosti nedostalo takové popularity. To se ale změnilo, až když se přišlo na to, že se DMT vyskytuje v mozku myši a krysy. Díky tomuto objevu si vědci začali klást otázku, zda-li by se mohlo DMT objevovat i v mozku lidském. V roce 1965 vyšel odborný článek [4], ve kterém se psalo, že se podařilo izolovat DMT z lidské krve. V roce 1972 pak z lidského mozku. Další výzkumy pak ukázaly, že DMT lze nalézt i v lidské moči a mozkomíšním moku. Tento objev se však netěšil takovému úspěchu, vzhledem ke skutečnosti, že v té době byl svět zasažen protipsychedelickými náladami [1].

Vědci se domnívali, že nadměrná přítomnost DMT v mozku může způsobovat různá duševní onemocnění, jako například psychózu či schizofrenii. Výzkum DMT dále pokračoval, když v roce 1970 bylo zařazeno na seznam zakázaných látek skupiny I spolu s dalšími látkami. Na toto navazoval článek [5], který vyšel v roce 1976, který pomyslně ukončil veškeré studie DMT na lidských dobrovolnících. Jeho autoři poukazovali na nejistou souvislost mezi duševními chorobami a DMT [1, 6].

Ke studiu DMT se koncem minulého století vrátil dr. Strassman, který prováděl klinickou studii na zdravých dobrovolnících. V současné době je výzkum využití DMT a obecně psychedelik na vzestupu, zejména pro své potenciální terapeutické využití [7, 8].

1.2 Výskyt

DMT se může kromě svých mimořádných účinků pyšnit také velmi hojným výskytem. Vyskytuje se totiž v těle některých zvířat, dále v rostlinách a dokonce i v těle lidském. Ze zvířat stojí za zmínku například Ropucha coloradská (*Incilius alvarius*) nebo Ropucha obrovská (*Bufo marinus*), jejichž sekrety obsahují látky strukturně velmi podobné DMT, jako bufotenin (5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin) nebo také 5-MeO-DMT

(5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamin). Přítomností a funkcí DMT v lidském mozku se budou věnovat další kapitoly [1, 9].

Rostliny s obsahem DMT jsou velmi hojně rozšířené. Nejvíce rozšířené jsou především v Jižní Americe, což jde ruku v ruce s rituálním užíváním DMT ve formě psychedelického nápoje Ayahuasca, které je typické pro tuto oblast. Zde jsou hojně zastoupené rostliny z rodů *Psychotria*, *Virola*, a *Mimosa*. V Austrálii se můžeme setkat s rody *Phalaris* a *Acacia*. Rod *Desmanthus* je rozšířen po celém území Ameriky. Přibližný obsah DMT ve vybraných rostlinách je uveden v níže uvedené tabulce (viz Tabulka 1) [1, 10, 11].

Tabulka 1 Přibližný obsah DMT ve vybraných rostlinách [10]

Rostlina	Výskyt	Obsah DMT [%]
<i>Acacia maidenii</i>	kůra	0,36
<i>Acacia phlebophylla</i>	listy	0,30
<i>Acacia simplicifolia</i>	listy, kůra	0,81
<i>Desmanthus illinoensis</i>	kůra kořenů	0,34
<i>Mimosa tenuiflora</i>	kůra kořenů	0,57-1
<i>Virola theidora</i>	květy	0,44
<i>Psychotria viridis</i>	listy	0,1-0,61

S rodem *Phalaris* se můžeme setkat téměř na celém světě, ale také na území ČR, konkrétně s druhem *Phalaris arundinacea* neboli Chrastice rákosovitá (viz Obrázek 2), což je na našem území velmi rozšířená rostlina, která roste především v blízkosti vod. V letech 2010-2012 bylo její cílené pěstování na našem území zakázáno, nicméně vzhledem k tomu, že přirozeně roste téměř všude, došlo ke zrušení tohoto zákazu [12, 13].



Obrázek 2 Lata Chrastice rákosovité (vlevo) a porost Chrastice rákosovité (vpravo) (převzato z [12])

1.3 Přítomnost a úloha v lidském organismu

1.3.1 Přítomnost

V nízkých koncentracích se DMT vyskytuje v mozkové tkáni. Bylo prokázáno, že vzniká v epifyze a je z ní uvolňováno, avšak pouze ve stopových množstvích. V epifyze primárně vzniká hormon melatonin, jehož úlohou je regulace cirkadiánního rytmu. Dále bylo DMT nalezeno v tělesných tekutinách, jako je krev, moč a mozkomíšní mok [14, 15].

K jeho syntéze také dochází v periferních tkáních, díky přítomnosti enzymu indolethylamin *N*-methyltransferáza (INMT), jež katalyzuje přeměnu tryptaminu na DMT. Nicméně nejvhodnějším substrátem pro tento enzym je serotonin a k tryptaminu se váže s mnohem menší afinitou. Z tohoto důvodu nedochází primárně k syntéze DMT. Dalším aspektem, který tuto syntézu znevýhodňuje je fakt, že DMT je při vyšších koncentracích inhibítoem INMT [15, 16].

1.3.2 Úloha

Dříve se předpokládalo, že endogenní úloha DMT spočívá v navození různých změněných stavů vědomí, jako jsou mimotělní zážitky či zážitky blízké smrti. Dále bylo DMT spojováno se sněním a kreativitou. Také se spekulovalo

o jeho vlivu na rozvoj některých duševních chorob, jako je např. schizofrenie. Z tohoto důvodu bylo DMT využíváno jako model psychiatrických poruch [15].

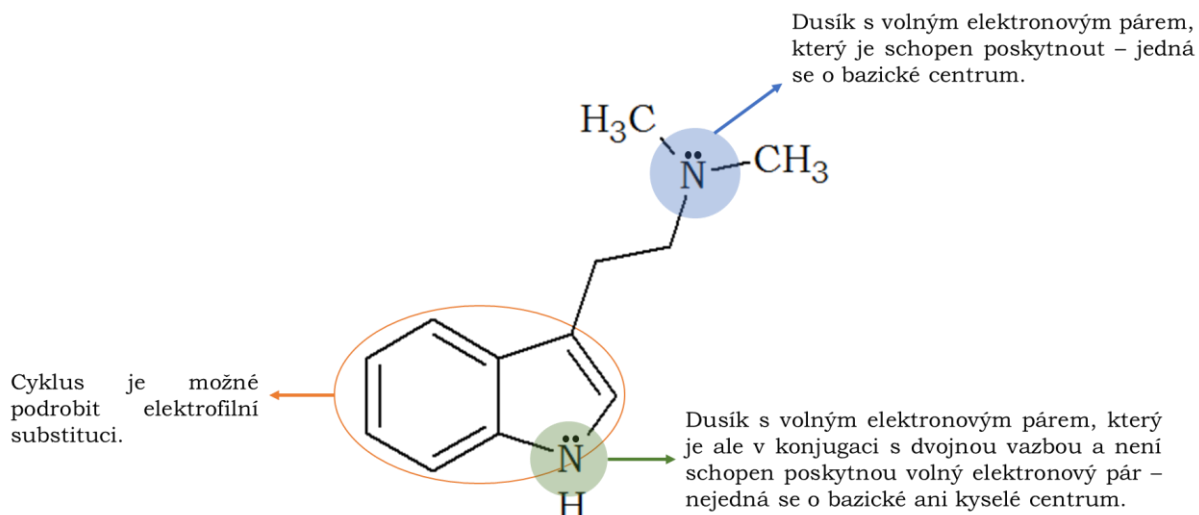
Dr. Strassman předpokládal, že za určitých okolností může být v epifýze syntetizováno DMT v takové koncentraci, která může vyvolat již zmíněné psychedelické účinky. Toto je však velmi nepravděpodobné, vzhledem ke skutečnosti, že epifýza by musela vyprodukovat asi 25 mg DMT za velmi krátký časový úsek (kolem 1 minuty). Především ve srovnání s průměrnou denní produkcí melatoninu (kolem 30 μg), jež je primárním produktem epifýzy, se toto jeví jako velmi nepravděpodobné [16].

Také se spekuluje o možné funkci DMT jako neurotransmiteru, jelikož existují důkazy, které toto tvrzení podporují. Jednak je to přítomnost DMT v mozku v koncentracích podobných, jako je tomu u jiných neurotransmiterů a dále jeho ukládání a následné uvolňování z vezikul. Bylo sledováno vylučování po podání radioaktivně značeného DMT ve srovnání s tryptaminem z mozku králíků. Ukázalo se, že DMT v mozku zůstává i po sedmi dnech, zatímco tryptamin se nepodařilo zachytit už po deseti minutách. To může naznačovat, že se DMT akumuluje ve vezikulách, což podporuje jeho roli, jako neurotransmiteru. DMT je také pravděpodobně substrátem pro serotoninový transportér (SERT) a vezikulární monoaminový transportér 2 (VMAT2), což také podporuje jeho roli jako neurotransmiteru. Na druhou stranu někteří autoři tuto teorii nepodporují a poukazují na nedostatek důkazů a potřebu dalšího zkoumání [15–17].

1.4 Chemické a fyzikální vlastnosti

1.4.1 Chemické vlastnosti

Jedná se o organickou sloučeninu s heterocyklickým aromatickým řetězcem odvozenou od indolu. Co se týče chemické taxonomie jedná se o terciární amin. Na níže uvedeném obrázku jsou znázorněna a popsána centra reaktivity DMT (viz Obrázek 3).



Obrázek 3 Chemické vlastnosti DMT [autorka]

1.4.2 Fyzikální vlastnosti

DMT je nejčastěji čirá nebo bílá krystalická látka. Často se také může zbarvovat do žluta či oranžova, pokud jsou přítomny nečistoty. Zápach je někdy přirovnáván k hořícímu plástu nebo vůni nových bot [18].

Molekula DMT má slabě lipofilní charakter a je poměrně malá. Z tohoto důvodu velmi dobře prochází hematoencefalickou bariérou a dostává se do mozku. Z nízké hodnoty $\log D_{7,4}$ vyplývá, že DMT zůstává v krevní plazmě z velké části nenasazené na plazmatické proteiny. Nenasazená část DMT je tedy rychle distribuována a metabolizována. Hodnoty teplot tání a varů jsou důležité pro aplikaci DMT kouřením, jelikož při zahřívání dochází k jeho snadnému odpařování. Přehled vybraných fyzikálních vlastností je uveden v tabulkách níže (viz Tabulka 2 a Tabulka 3) [19, 20].

Tabulka 2 Vzhled a rozpustnost DMT ve vybraných rozpouštědlech

Vlastnost	Skupenství	Barva	Rozpustnost		
			Voda	Zřed. minerální kyseliny	Organická rozpouštědla
Hodnota	Pevné [21]	čirá/bílá [22]	extrémně nízká [22]	ano [21]	ano [23]

Tabulka 3 Hodnoty vybraných fyzikálních vlastností DMT

Vlastnost	Molekulová hmotnost	Bod tání	Bod varu	logP	logD _{7,4}	pK _B
Hodnota	188,27 g/mol [22]	46 °C [21]	160 °C ^a [24]	2,57 [19]	0,15 [20]	9,33 ^b [25]

1.5 Syntéza

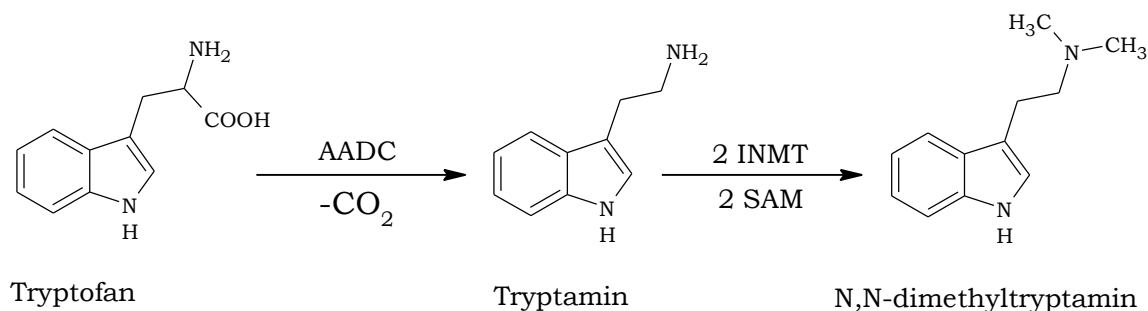
1.5.1 Biosyntéza

Syntéza DMT v lidském organismu vychází z tryptofanu, což je aminokyselina běžně přítomná v potravě. Stejně je tomu v případě syntézy neurotransmiteru serotoninu a hormonu melatoninu [2].

Nejprve dochází k dekarboxylaci tryptofanu pomocí enzymu dekarboxyláza aromatických L-aminokyselin (AADC). Dále je tryptamin ve dvou krocích enzymaticky methylován, přičemž donorem methyly je S-adenosylmethionin (SAM) a enzymem katalyzujícím tuto reakci je indolethylamin *N*-methyltransferáza (INMT) (viz Obrázek 4) [2].

^a Při tlaku 79,99 Pa.

^b Při 37 °C.

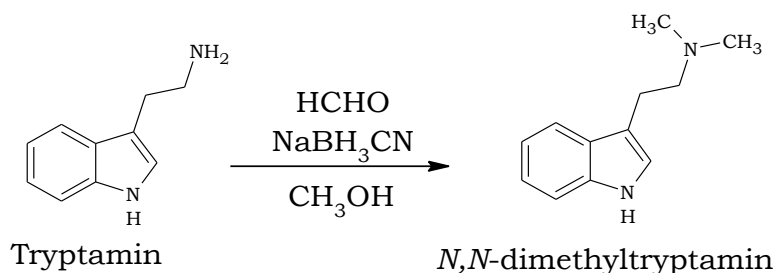


Obrázek 4 Biosyntéza DMT (převzato a upraveno z [2])

1.5.2 Chemická syntéza

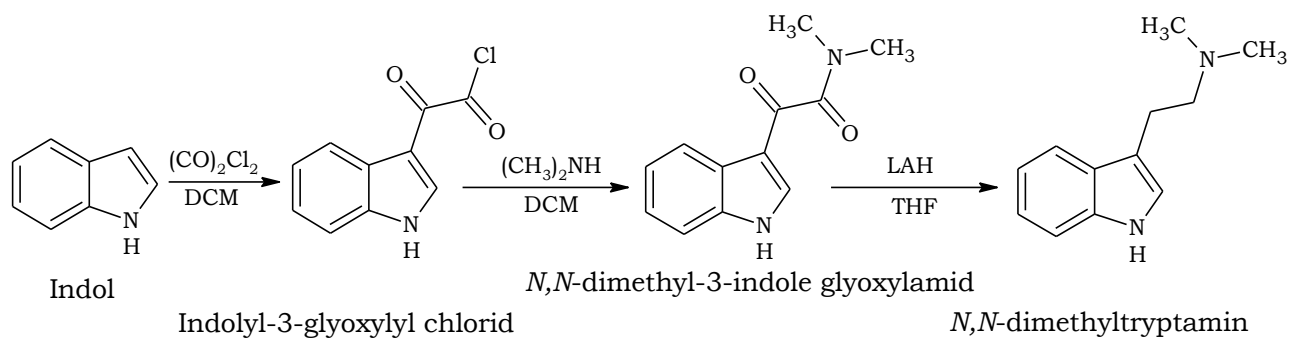
Existuje mnoho způsobů, jak syntetizovat DMT. Jednotlivé syntézy se liší na základě náročnosti provedení, dostupnosti výchozích látek a také na procentuálním výtěžku.

Jednou z možných syntéz je reduktivní deaminace v kyselém prostředí (viz Obrázek 5), kdy do reakce vstupuje tryptamin společně s formaldehydem a kyanoborohydridem sodným. Tato syntéza je rychlá, jednoduchá a dosahuje výtěžků kolem 70 %. Její nevýhodou je použití tryptaminu jako výchozí látky, vznik vedlejších produktů při nedodržení stechiometrie a nevhodnost pro výrobu různých analogů [2].



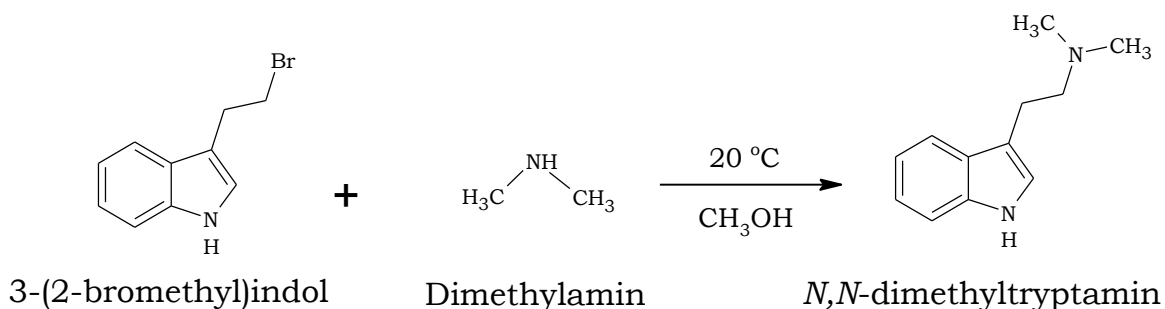
Obrázek 5 Reduktivní deaminace (převzato a upraveno z [2])

Naopak syntéza vycházející z indolu (viz Obrázek 6) umožňuje přípravu široké škály různých analogů a je velmi spolehlivá. Její nevýhodou je delší víceetapový postup [2].



Obrázek 6 Vícekroková syntéza DMT (převzato a upraveno z [2])

Jako poslední je uvedena syntéza (viz Obrázek 7), která vychází z dostupných látek a je taktéž poměrně jednoduchá. Opět se jedná o syntézu s vysokým výtěžkem (84 %) [26].



Obrázek 7 Syntéza DMT aminací 3-(2-bromomethyl)indolu (převzato a upraveno z [26])

1.6 Farmakologické vlastnosti

1.6.1 Farmakodynamika

1.6.1.1 Interakce se serotoninovými receptory

Jak již vypovídá z názvu, hlavním agonistou serotoninových receptorů je serotonin neboli 5-hydroxytryptamin (5-HT), což je biogenní amin působící jako neurotransmitter a neuromodulátor. Podílí se na některých tělesných funkcích jako je spánek, bolest nebo emoce. Serotoninové receptory se dělí na 14 podtypů, které mají různé fyziologické funkce [27].

DMT interaguje s velkým množstvím serotoninových receptorů (je buď jejich agonistou nebo částečným agonistou). Je pravděpodobné, že za halucinogenními účinky DMT stojí právě interakce s receptorem 5-HT_{2A}.

Vysoká afinita DMT k tomuto receptoru je zapříčiněna malými methylovými skupinami na dusíku (substituenty větší než isopropyl tuto afinitu dramaticky snižují). Naopak hydroxylace DMT v poloze 4 nebo 5 tuto afinitu zvyšují (až 10×). Po čase nedochází k desenzibilizaci tohoto receptoru interakcí s DMT, což vysvětluje, proč nedochází ke vzniku tolerance. Interakce s tímto receptorem je pravděpodobně příčinou psychoplastogenních účinků DMT [2].

DMT působí jako částečný agonista na receptor 5-HT_{2C}, na který se váže přibližně s poloviční afinitou, než jak tomu bylo u receptoru 5-HT_{2A}. Receptor 5-HT_{2C} se také liší v tom, že se po čase desenzibiluje na DMT [2].

1.6.1.2 Interakce se sigma-1 receptory

Sigma-1 receptor patří společně s receptorem sigma-2 do skupiny sigma receptorů. Tyto receptory hrají určitou roli u mnoha nemocí, jako je rakovina, deprese nebo Alzheimerova choroba. Sigma-1 receptor je transmembránový protein lokalizovaný v membráně endoplazmatického retikula. Nachází se v imunitních a endokrinních tkáních spojených s CNS, několika typech buněk CNS a dále také v různých membránách [28, 29].

DMT je jeden z mála endogenních agonistů receptoru sigma-1, nicméně jeho afinita k těmto receptorům je asi 100× nižší než k serotoninovým receptorům. Je možné, že agonismus DMT k tomuto receptoru může zapříčínovat snížené poškození neuronů vyvolané hypoxií a oxidativním stresem. Stejně tak je možné, že DMT může hrát jistou roli v imunoregulaci, díky přítomnosti sigma-1 receptorů v buňkách imunitního systému. Interakce s tímto receptorem může také vysvětlovat antidepresivní působení DMT. Na druhou stranu není velmi pravděpodobné, že by sigma-1 receptory hrály roli ve funkci endogenního DMT. Jednak z důvodu již zmíněné nízké afinity DMT k těmto receptorům a jednak kvůli nedávnému objevení tohoto receptoru. Zda se interakce s tímto receptorem podílí na psychedelických účincích DMT zůstává také nejasné [2, 30, 31].

1.6.1.3 Interakce s receptory stopových aminů

Receptory stopových aminů (z angl. TAARs – Trace Amine-Associated Receptors) je skupina receptorů, které se vyskytují převážně v mozku, ale některé také v čichovém systému a dalších tělesných tkáních. Agonisty těchto

receptorů jsou tzv. stopové aminy, což jsou aminy, které mají podobnou strukturu a farmakologické vlastnosti jako klasické biogenní aminy, avšak vyskytují se v mnohem nižších koncentracích (pod 10 ng/g tkáně). Klasické biogenní aminy, jako je např. dopamin či serotonin jsou také agonisty TAAR, avšak v mnohem menší míře než stopové aminy [32].

DMT vykazuje agonismus k tomuto receptoru, ale není jasné, zda interakce s tímto receptorem může za psychedelické působení DMT [33].

1.6.1.4 Interakce s dalšími receptory

Vyskytují se důkazy, že některé glutamátové receptory, konkrétně NMDA receptory mohou hrát roli ve zprostředkování účinků DMT. Interakce serotonergních a glutaminergních receptorů také může hrát roli v působení DMT. Na dopaminové receptory DMT vliv nemá, nicméně může nepřímo měnit hladiny dopaminu. Také je možné, že DMT interaguje s dalšími známými či dosud neobjevenými receptory [15].

1.6.2 Farmakokinetika

Popis farmakokinetiky a určení farmakokinetických parametrů je důležité zejména z důvodu určení vhodného dávkování DMT a způsobu aplikace. Dále budou stručně popsány jednotlivé části farmakokinetiky DMT od absorpce po exkreci.

1.6.2.1 Absorpce

1.6.2.1.1 Enterální aplikace

Tento způsob aplikace je v případě DMT velmi nevýhodný, jelikož dochází k průchodu trávicím traktem a metabolismu játry. V tomto případě jsou i velmi vysoké dávky (až 13 mg/kg) neúčinné. Je to zapříčiněno tím, že v trávicím traktu jsou přítomny MAO, které katalyzují rychlý rozklad DMT. Tuto aplikaci je možné použít pouze se současným užitím MAOI. Při tomto podání účinky nastupují pomaleji a trvají delší dobu [19].

1.6.2.1.2 Parenterální aplikace

Parenterální podání je naopak velmi výhodné, jelikož dochází k téměř okamžitému vstřebání z místa aplikace do krevního oběhu a dále pak do mozku. Zde se řadí např. intravenózní podání (i.v.), intramuskulární

podání (i.m.), inhalace či kouření. U těchto způsobů nastupují typické účinky téměř okamžitě a trvají velmi krátce (do 60 minut) [19, 34].

1.6.2.2 Distribuce

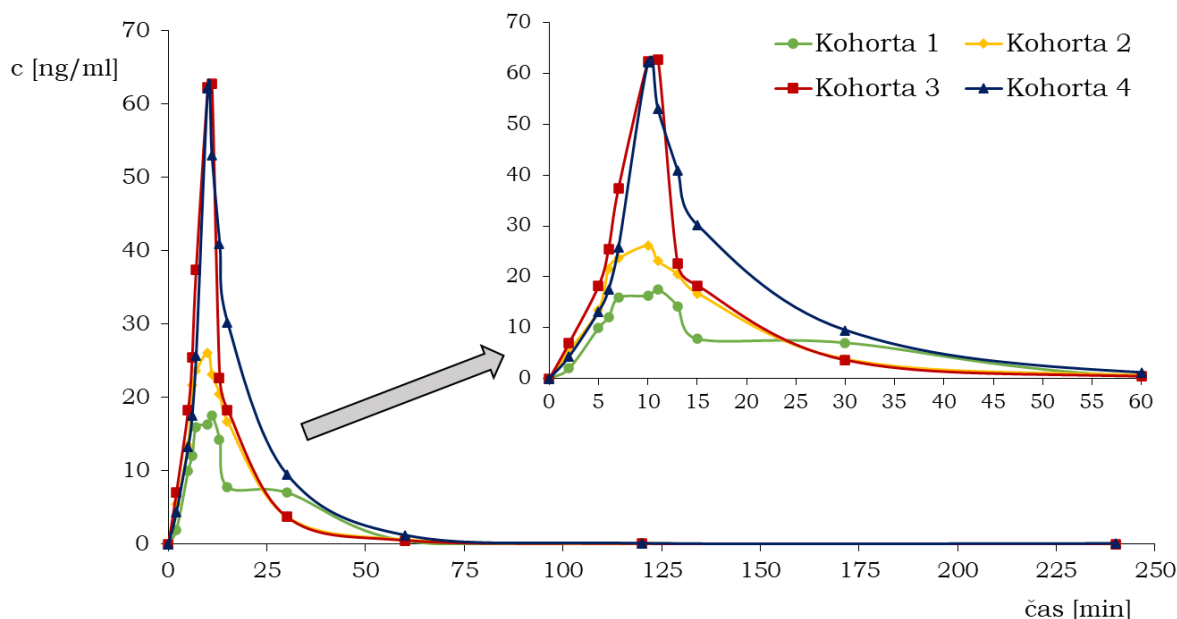
Distribuce DMT v organismu po podání je sledována měřením koncentrací v jednotlivých tělesných tkáních.

U potkanů byly po intraperitoneálním (i.p.) podání DMT (10 mg/kg) pozorovány maximální koncentrace v játrech a ledvinách po 5 minutách od aplikace. Maximální koncentrace v mozku byly sledovány po 10 minutách od aplikace. Po podání nižší dávky (5 mg/kg) byla pozorována maximální koncentrace v játrech po 10 minutách a v mozku po 15 minutách. Po 30 minutách od podání už DMT zpravidla nebylo měřitelné v žádné z těchto tkání [19].

Jak již bylo zmíněno v kapitole o fyzikálních vlastnostech, DMT se vyskytuje v krevní plazmě z velké části nevázané. Tento nevázaný podíl je tedy dostupný pro další distribuci. K odstranění intravenózně podaného DMT dochází dříve, než se dostane do lidských jater (viz kapitola 1.6.2.3 Biotransformace). V případě intravenózní aplikace u lidí se objevují maximální plazmatické koncentrace DMT během 2 minut po podání [20].

Na grafu níže (viz Obrázek 8) je patrný strmý nárůst maximální plazmatické koncentrace téměř ihned po podání. DMT zde bylo aplikováno několika subjektům v podobě desetiminutové infuze, přičemž celková dávka DMT byla rozdělena na dvě menší dávky. První dávka byla podána během prvních 5 minut a sloužila k postupnému nástupu psychedelických účinků, přičemž tato dávka byla pro všechny subjekty stejná (6 mg). Druhá podaná dávka se již v jednotlivých kohortách lišila. Konkrétní dávkování je uvedeno v tabulce níže (viz Tabulka 4). Dále jsou shrnuty základní farmakokinetické parametry (viz Tabulka 5) [20].

Závislost plazmatické koncentrace DMT na čase



Obrázek 8 Graf závislosti plazmatické koncentrace DMT na čase (převzato a upraveno z [19])

Tabulka 4 Základní informace o kohortách a podané dávky DMT (převzato a upraveno z [20])

Kohorta	1	2	3	4
Počet subjektů	5	6	5	6
Dávka DMT [mg]	9 ^c	12 ^d	17 ^e	21,5 ^f

Tabulka 5 Základní farmakokinetické parametry (průměrné) pro jednotlivé kohorty (převzato a upraveno z [20])

Kohorta	1	2	3	4
C_{max} [ng/ml]	20,8	30,6	72,1	62,7
AUC_{last}	349	451	842	835
$t_{1/2}$ [min]	12,1	9,5	-	12,1

1.6.2.3 Biotransformace

Předpokládá se, že DMT je primárně metabolizováno pomocí MAO-A, které jsou přítomné v mnoha tkáních, jako jsou plíce, mozek, srdce, játra a GIT. Na metabolismu DMT se také podílí enzymy CYP, avšak v menší míře než MAO. Enzymy CYP se vyskytují zejména v játrech. Metabolické cesty závisí

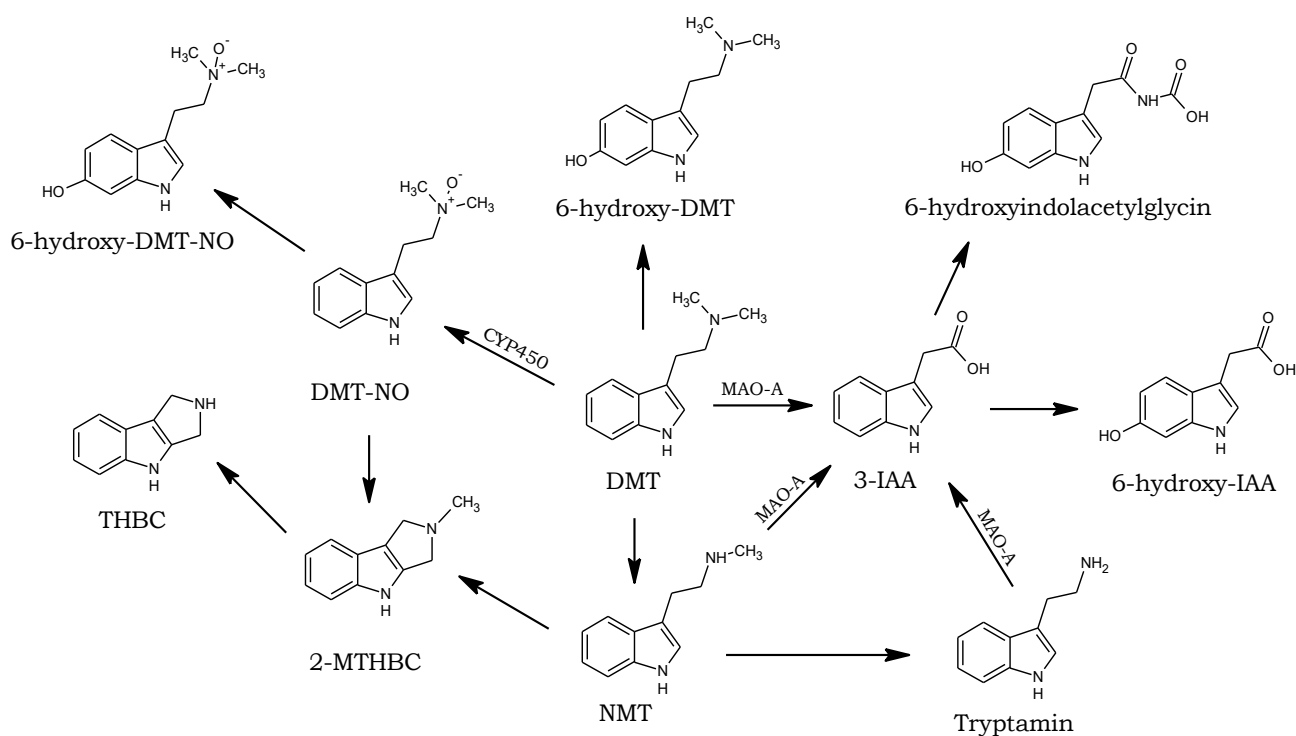
^c 6 mg během prvních 5 minut, 3 mg během dalších 5 minut

^d 6 mg během prvních 5 minut, 6 mg během dalších 5 minut

^e 6 mg během 5 minut, poté 11 mg během 5 minut

^f 6 mg během 5 minut a následně 15,5 mg během 5 minut

na způsobu podání DMT. V případě perorálního podání dochází primárně k oxidativní deaminaci pomocí MAO-A, zatímco u kouření se ve větší míře zapojují i enzymy CYP. MAO-A přítomné v plazmě deaminují pouze primární aminy, což vysvětluje, že se DMT jako terciární amin může dostat do mozku a vyvolat psychologické účinky. Typické cesty metabolismu DMT jsou uvedeny níže (viz Obrázek 9) [19, 20, 35].



Obrázek 9 Schéma biotransformací DMT (převzato a upraveno z [19])

1.6.2.4 Exkrece

DMT je z organismu vylučováno močí v závislosti na způsobu aplikace. V případě kouření činí hodnoty metabolitu 3-IAA zhruba 62,6 %, metabolitu DMT-NO asi 27,7 % a nemetabolizované DMT kolem 9,7 %. U perorální aplikace převažuje metabolit 3-IAA (96,9 %). Hodnota DMT-NO činí asi 3 % a nemetabolizované DMT pouze 0,04 % [35].

1.7 Účinky na organismus

1.7.1 Fyziologické

DMT se vyznačuje velmi nízkou toxicitou a nízkým potenciálem vyvolat závislost. Na rozdíl od ostatních serotonergních psychedelik nedochází u DMT ke vzniku tolerance. To znamená, že po rychlém opakovaném podávání stejných dávek DMT nedojde k zeslabení, či vymizení účinků [36].

Po aplikaci DMT dochází ke zvýšení srdeční frekvence a také ke zvýšení krevního tlaku. Dále zvyšuje hodnoty některých hormonů, jako je kortikotropin, kortizol, prolaktin a růstový hormon. DMT také rozšiřuje zornice a zvyšuje rektální teplotu [15, 19].

1.7.2 Psychologické

Účinky DMT se liší v závislosti na způsobu aplikace a samozřejmě také na dávce. V případě kouření či intravenózního podání se žádoucí účinky dostavují velmi rychle a také trvají kratší dobu. Tyto účinky jsou také velmi intenzivní. Naopak v případě orálního podání účinky nastupují pomaleji a trvají mnohem delší dobu (v řádu hodin).

DMT vyvolává výrazné změny vnímání, jako jsou vizuální i sluchové halucinace. Uživatelé často popisují průchod tunelem světla, setkání s různými entitami (božstva, mimozemšťané). Mezi často popisované vizuální halucinace patří různé kaleidoskopické a geometrické vzory. Pro sluchové halucinace jsou pak typické vibrace či hudba. Časté je také změněné vnímání času a prostoru. Uživatelé mají často pocit odtržení od vlastního těla. Při užívání se také občas může objevit synestezie, což je prolínání různých smyslů. Uživatel může například slyšet barvy nebo vidět zvuky. Po aplikaci vysokých dávek DMT se objevují zejména zrakové halucinace, zatímco při nižších dávkách převládají stimulační účinky [19, 30].

Tyto účinky mohou být pro uživatele často velmi transformativní v pozitivním slova smyslu, nicméně mohou být i velmi negativní. Z tohoto důvodu je důležitý tzv. „set“ a „setting“, přičemž „set“ je vnitřní nastavení jedince neboli jeho psychický stav a očekávání a „setting“ představuje sociální a fyzické prostředí, ve kterém se jedinec nachází [37].

1.8 Užívání

1.8.1 Rekreační užívání

DMT spadá v USA do látek skupiny I, které jsou definovány jako látky s vysokým potenciálem pro zneužití bez možného lékařského použití. Stejně tak v České republice se DMT řadí mezi zakázané psychotropní látky dle zákona č. 167/1998 Sb. DMT je nelegální i v dalších státech OSN [38, 39].

V České republice jsou nejvíce zneužívanými nelegálními drogami konopné látky následované halucinogenními houbami a extází. Halucinogeny, které zahrnují i DMT (mimo LSD a halucinogenní houby) jsou jedny z nejméně užívaných nelegálních drog v ČR [40].

DMT se nejčastěji užívá kouřením nebo inhalací. Ke kouření se často používají různé dýmky nebo vaporizéry, případně se DMT přidává k tabáku či jiné bylinné směsi. Tento způsob aplikace se vyznačuje velmi rychlým nástupem (v jednotkách sekund) a poměrně krátkou dobou působení. To je způsobeno tím, že DMT prochází přes plíce přímo do krevního oběhu [41, 42].

Injekční aplikace (i.v., i.m.) se mezi rekreačními uživateli vyskytuje velmi zřídka. Tato aplikace představuje obzvlášť mezi nezkušenými uživateli podstatné riziko a není tak pohodlná jako předchozí varianty [19].

1.8.2 Rituální užívání

Rituální užívání DMT je rozšířené zejména v zemích Jižní Ameriky. Zde je DMT užíváno nejčastěji ve formě psychedelického nápoje Ayahuasca. Ta se běžně užívá v některých náboženských skupinách (např. Santo Daime), nicméně v nedávné době se její užívání rozšířilo ve formě tzv. ayahuascové turistiky. V Amazonii existují specializovaná centra, která jsou určena pouze pro turisty [1, 43, 44].

Kontext tohoto užívání je především náboženský, léčitelský a kulturní. Součástí tohoto užívání je ceremoniál, který je zprostředkován léčitelem nebo šamanem. Příprava na ceremoniál zahrnuje dodržování určité diety a sexuální abstinenci. Samotný ceremoniál probíhá často v noci ve specializovaných kruhových budovách a je doprovázen hudbou, která má za cíl umocnit psychedelický prožitek uživatele [30].

Ayahuasca je nápoj tmavě hnědého zbarvení, hořké chuti, který se připravuje povařením různých druhů rostlin ve vodě. Složení Ayahuascy bývá proměnlivé a liší se na základě konkrétní přípravy. Základní přísadou je liána *Banisteriopsis caapi*, která obsahuje β -karbolinové alkaloidy, jež jsou reverzibilními inhibitory monoaminoxidázy. Ty zabraňují enzymatickému rozkladu DMT. Další důležitou složkou je rostlina, která obsahuje DMT. Nejčastěji se jedná o *Psychotria viridis*, méně často pak např. *Diplopterys cabrerana*. Nejčastěji používané rostliny k přípravě Ayahuascy jsou uvedeny níže (viz Obrázek 10) [30, 45, 46].



Obrázek 10 Typické složky Ayahuascy - *Psychotria viridis* (A) a *Banisteriopsis caapi* (B, C), (převzato z [19])

DMT se ve formě Ayahuascy užívá perorálně, tedy enterálně. To znamená, že se dostává do krevního oběhu během vstřebávání v zažívacím traktu. Z tohoto důvodu trvá nástup typických účinků mnohem déle, než je tomu například v případě kouření (až jednu hodinu) a samotný stav změněného vědomí trvá také velmi dlouho (4-6 hodin). Odlišný je i průběh intoxikace, kdy se po požití Ayahuascy často dostávají nežádoucí účinky, jako je průjem či zvracení. Někteří uživatelé však tyto symptomy považují za prospěšné a očistné [30, 47].

Existují další, avšak méně využívané způsoby rituálního užívání DMT, jako je např. šňupací tabák yopo, který se připravuje nejčastěji z rostlin *Anandenanthera peregrina* a *Anandenanthera colubrina*. Tyto rostliny obsahují hlavně 5-MeO-DMT a 5-H-DMT, přičemž DMT obsahují také, ale v menší míře [48, 49].

1.9 Potenciální využití v psychoterapii

V 50. a 60. letech minulého století probíhalo velké množství klinických studií, které zkoumaly psychoterapeutický potenciál serotonergních psychedelik. Tyto studie byly však ukončeny, když se v roce 1967 psychedelika dostala mimo zákon [1, 50].

Toto období bez klinického testování trvalo téměř 30 let. V 90. letech minulého století proběhla jedna z prvních klinických studií po této pauze, která zkoumala účinky DMT. Od tohoto období se začaly klinické studie využívající psychedelika opět objevovat a v současnosti se dostávají do popředí především díky svému potenciálu v léčbě psychiatrických poruch [1, 15].

DMT bylo v klinických studiích testováno jak samostatně, tak ve formě Ayahuascy. Drtivá většina z nich však využívala pouze Ayahuascu, protože samostatné DMT mělo velmi silné kardiovaskulární účinky. Účinky Ayahuascy byly méně toxické, ale psychologické efekty byly zachovány [15].

Potenciální využití DMT v psychoterapii se zaměřuje převážně na léčbu deprese, úzkosti, závislostí a dále zkoumá DMT jako tzv. model psychiatrických poruch, jako je např. schizofrenie či psychóza. Použití DMT na vybraná onemocnění bude rozepsáno dále [15].

1.9.1 Léčba deprese

DMT bylo v klinických studiích podáváno zejména ve formě Ayahuascy která obsahuje i další přísady, jako jsou například β -karbolinové alkaloidy. Bylo prokázáno, že β -karbolinové alkaloidy mají antidepresivní vlastnosti (např. harmin a další MAOI). Z tohoto důvodu může být antidepresivní úloha DMT zkreslená. Nicméně byla provedena studie, která zkoumala účinky samotného DMT, a to vykazovalo charakteristickou antidepresivní odpověď [2, 15].

Antidepresivní účinky Ayahuascy byly testovány jak na zvířatech (potkani), tak na lidech. U potkanů se prováděl test nuceného plavání, jehož výsledek ukazoval na snížení deprese. Tento test slouží jako škála hodnocení míry deprese, přičemž delší doba plavání je spojována se snížením depresivních příznaků. Stejně tak u lidí bylo pozorováno zmírnění deprese a

to až 21 dní po jediné dávce. Také u dlouhodobých uživatelů Ayahuascy byly depresivní symptomy potlačeny, a to bez narušení kognitivních funkcí a dalších psychických obtíží [2, 15, 51].

Mechanismus antidepresivního působení DMT pravděpodobně spočívá v jeho silných protizánětlivých vlastnostech. DMT je agonistou sigma-1 receptorů. Aktivaci tohoto receptoru dochází k inhibici produkce prozánětlivých cytokinů a zároveň ke zvýšení sekrece protizánětlivého cytokinu (IL-10) [31].

1.9.2 Léčba úzkosti

Byla provedena studie, která zkoumala vliv působení Ayahuascy na úzkost. U uživatelů došlo ke snížení úzkosti po 7-14 dnech od aplikace. Snížení úzkosti po 1 hodině od aplikace nebylo pozorováno. Tato studie se však zaměřovala na uživatele, kterým byla Ayahuasca aplikovaná v náboženském kontextu, což mohlo výsledky zkreslovat. Existují však i studie, které se zaměřovaly na změny úzkosti u potkanů. V některých testech došlo ke vzniku časných anxiogenních účinků, nicméně dlouhodobé účinky byly spíše anxiolytické. Zatím bylo provedeno male množství studií, které zkoumaly účinky DMT na úzkost a bude potřeba dalšího zkoumání, nicméně se ukazuje, že DMT by mohlo být v určitých podmínkách vhodným prostředkem pro léčbu úzkosti [15, 52].

1.9.3 Léčba závislostí

Z provedených studií vyplývá, že Ayahuasca může sloužit jako nástroj pro léčení závislostí na návykových látkách. Liester a Prickett navrhli čtyři hypotézy, podle kterých může Ayahuasca působit proti závislostem. První hypotéza se zaměřuje na fakt, že Ayahuasca snižuje hladinu nebo aktivitu dopaminu v mozku. Další hypotéza navazuje na předchozí a poukazuje na narušení synaptické plasticity, která se podílí na rozvoji závislosti, v důsledku snížených hladin dopaminu. Poslední dvě hypotézy připisují potenciál Ayahuascy v léčbě závislostí silným introspektivním a transcendentním zážitkům po jejím užití [53].

1.9.4 DMT jako model psychiatrických poruch

DMT lze potenciálně využít jako model některých psychiatrických poruch, jelikož jeho halucinogenní účinky se dají porovnat s pozitivními příznaky schizofrenie, jako jsou halucinace a bludy. U pacientů se schizofrenií bylo také pozorováno zvýšení hladin endogenního DMT během psychotických epizod a jejich následné snížení během odeznívání těchto epizod. Z tohoto důvodu se spekulovalo o možné roli DMT v patogenezi schizofrenie. V současnosti se však nadměrná přítomnost endogenního DMT nepovažuje za příčinu schizofrenie, jelikož neexistují důkazy, které by tuto teorii prokazovaly [15].

2 METODY EXTRAKCE A STANOVENÍ

2.1 Metody extrakce a stanovení DMT z rostlinných matric

2.1.1 Rostlinné matrice

DMT může být izolován z rostlinných matric, jako je např. kůra, kořeny, květy či listy. Nejčastěji se jedná o rostliny využívané pro přípravu Ayahuascy nebo pro jiné rituální využití. Mezi tyto rostliny patří např. rody *Mimosa*, *Psychotria* nebo *Virola*. Stejně tak může být DMT izolován přímo z Ayahuascy [54].

2.1.2 Metody extrakce z rostlinných matric

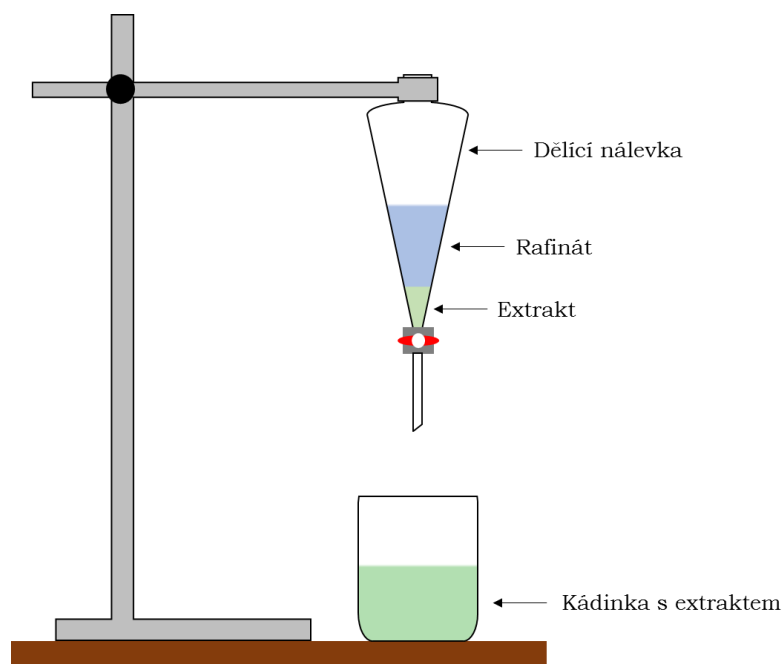
K izolaci DMT z rostlinných matric je využíváno různých extrakčních technik. Vybrané z nich budou dále popsány.

2.1.2.1 Extrakce kapalina-kapalina

Při extrakci kapalina-kapalina (z angl. LLE – Liquid-Liquid Extraction) je vzorek s cílovým analytem rozpuštěn ve vodě. Dále se přidává organické rozpouštědlo, které se s původním rozpouštědlem nesmí mísit (případně jen omezeně). Podmínkou je také vyšší rozpustnost analytu v přidaném organickém rozpouštědle. Míru přechodu analytu do přidaného rozpouštědla popisuje rozdělovací koeficient[§] (P), viz rovnice (1). LLE je možné využít jak k extrakci dané látky, tak k odstranění nečistot. Nejjednodušším provedením LLE je extrakce v dělicí nálevce (viz Obrázek 11). Pokud je potřeba využít větší množství rozpouštědla používají se vsádkové extraktory se spojitým stykem fází (obou kapalin) [55, 56].

$$P = \frac{c_{org.}}{c_{vod.}} \quad (1)$$

[§] V literatuře se často značí jako Kow (příp. Pow)



Obrázek 11 Aparatura pro LLE s dělicí nálevkou [autorka]

Nevýhodou této techniky je použití velkých objemů často toxických organických rozpouštědel, časová náročnost a problematická automatizace. Z tohoto důvodu je LLE v současné době nahrazována jinými extrakčními technikami [55].

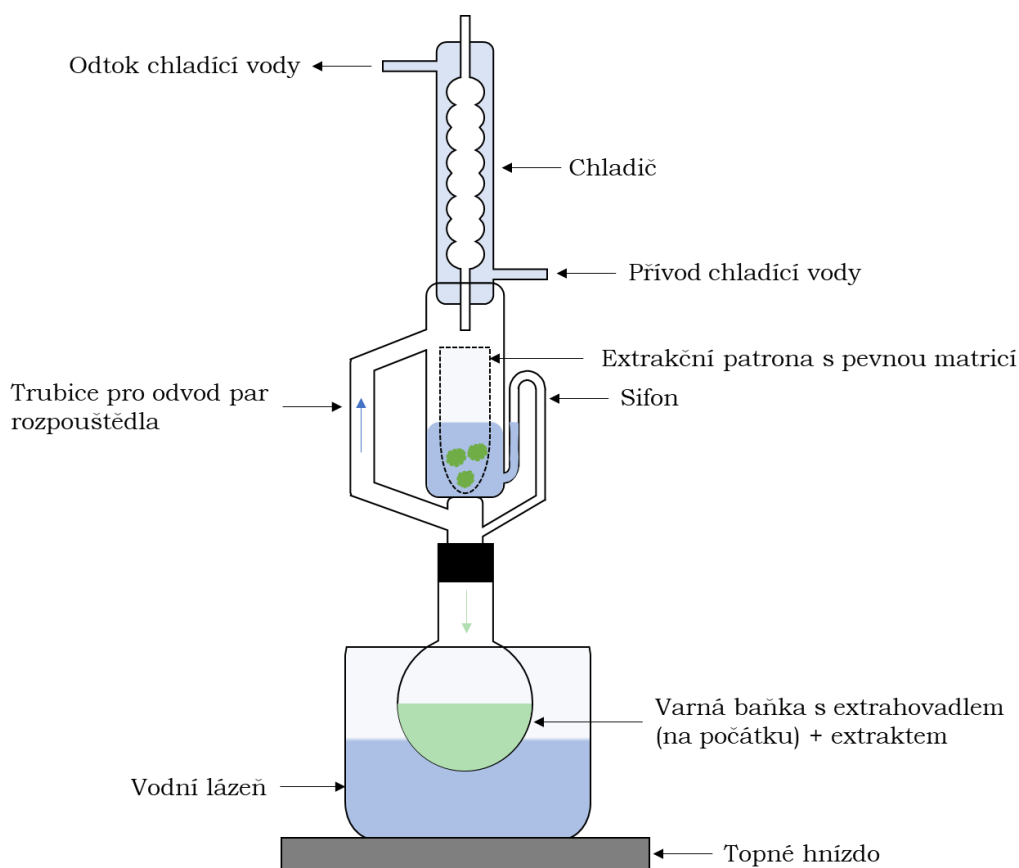
K extrakci DMT z rostlinných matric lze použít různá organická rozpouštědla, přičemž DMT lépe přechází do polárnějších rozpouštědel, díky přítomnosti aminoskupiny. Nicméně nevýhodou těchto polárnějších rozpouštědel je vznik nežádoucích emulzí s vodnou fází. Níže je přehled možných použitelných rozpouštědel pro extrakci DMT (viz Tabulka 6) [57].

Tabulka 6 Přehled použitelných rozpouštědel pro extrakci DMT (převzato a upraveno z [57])

Rozpouštědlo	$c_M(\text{DMT})$ [mg/ml]
<i>n</i> -hexan	0,22
ethylacetát	1,28
chloroform	2,03
<i>n</i> -butanol	3,54
dichlormethan	3,73

2.1.2.2 Extrakce kapalina-tuhá látka

Extrakce kapalina-tuhá látka (z angl. LSE – Liquid-Solid Extraction) patří společně s LLE mezi klasické extrakční techniky a dnes se již tak často nepoužívá. Požadovaný analyt se izoluje z tuhé látky za pomoci vhodného rozpouštědla (nejčastěji organického). Příkladem LSE je použití Soxhletova extraktoru (viz Obrázek 12), kdy se do extrakční patrony v Soxhletově nástavci umístí tuhý vzorek. Rozpouštědlo je zahříváno ve varné baňce a jeho páry kondenzují na chladiči a stékají na vzorek v patroně, kde dochází k extrakci. Extrakt stéká do varné banky a koncentruje se zde [55, 58].



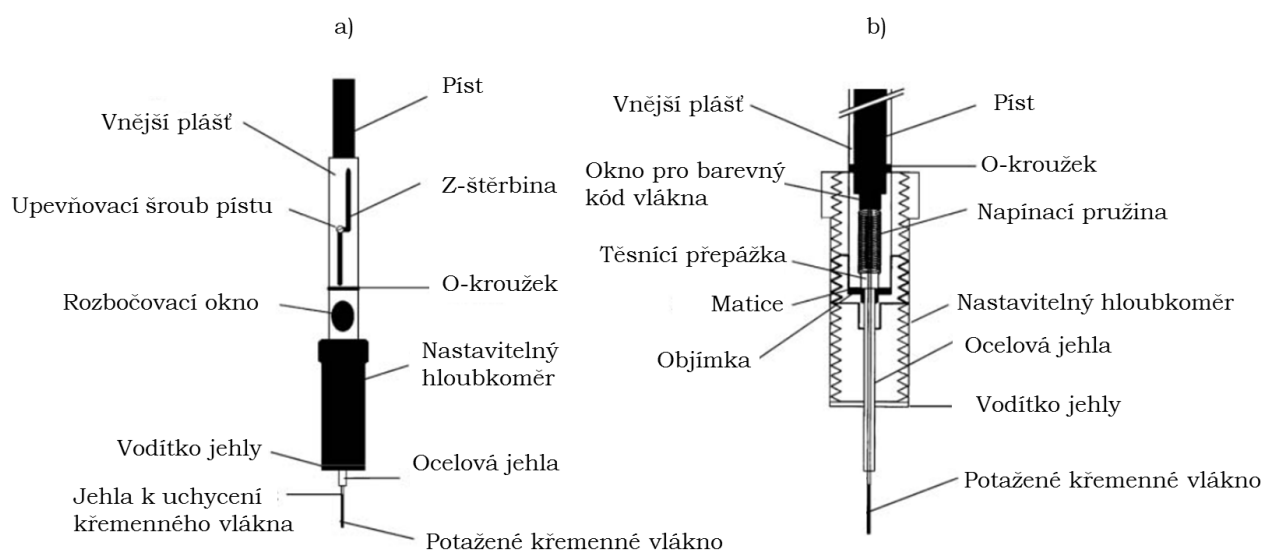
Obrázek 12 Schéma Soxhletova extraktoru pro LSE (převzato a upraveno z [55])

2.1.2.3 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází neboli SPME (z angl. SPME – Solid Phase Micro Extraction) se využívá k izolaci a sorpci analytu na tenké vlákno z taveného křemene pokryté malým množstvím stacionární fáze. Pokud se vlákno ponoří přímo do kapalného vzorku jedná se o DI-SPME (z angl. Direct Immersing -

Solid Phase Micro Extraction). V případě, že je vlákno aplikováno do prostoru nad kapalným vzorkem, pak hovoříme o HS-SPME (z angl. Head Space - Solid Phase Micro Extraction). Zařízení používané pro SPME je popsáno níže (viz Obrázek 13) [55, 58].

Výhoda této techniky spočívá ve spojení odběru a přípravy vzorku do jednoho kroku. Stejně tak je tato technika levná, jednoduchá a rychlá [55].

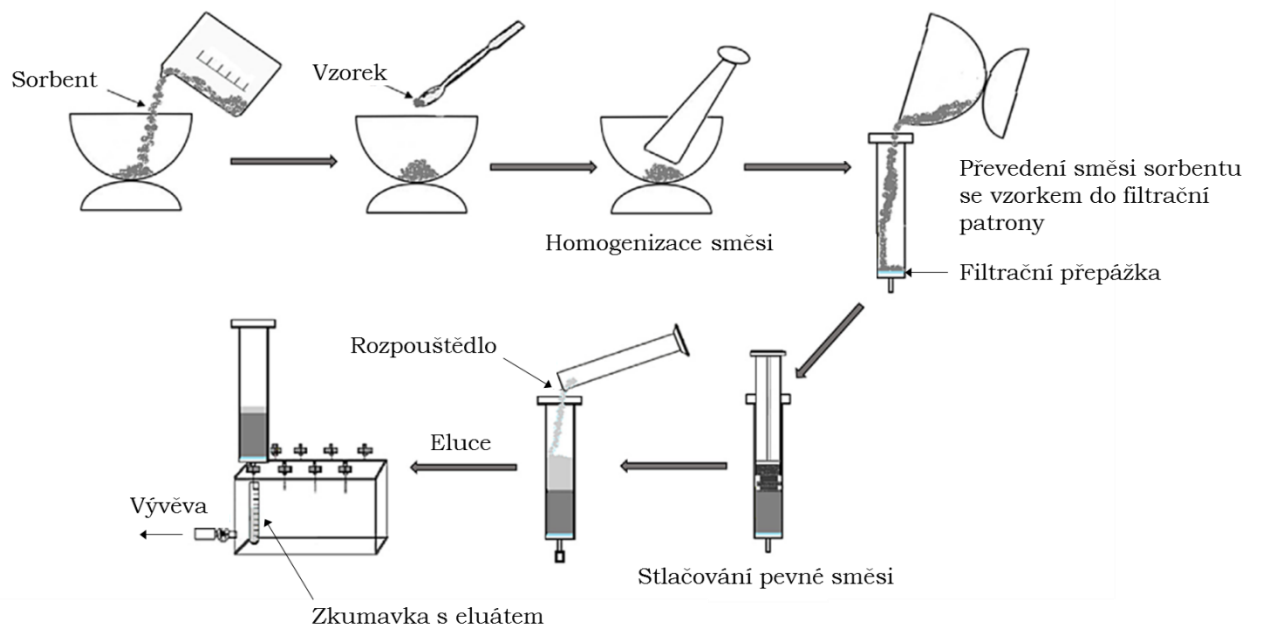


Obrázek 13 Držák vlákna SPME (a), průřez sestavou vlákna SPME (b) (převzato a upraveno z [59])

2.1.2.4 Matricová disperze v tuhé fázi

Matricová disperze v tuhé fázi (z angl. MSPD – Matrix Solid Phase Dispersion) funguje na principu mechanického rozrušení směsi matrice vzorku s cílovým analytem se sorbentem a následnou elucí analytu pomocí vhodného rozpouštědla. Provedení MSPD je znázorněno níže (viz Obrázek 14), přičemž žádaný analyt je po provedení přítomen buď v eluátu a nebo zůstává adsorbován na pevném nosiči (v závislosti na použitých činidlech a charakteru analytu) [60].

Výhodou této techniky je stejně jako u SPME použití velmi malých objemů rozpouštědel a malých množství vzorku, jednoduché a rychlé provedení a nízké pořizovací a provozní náklady [60].

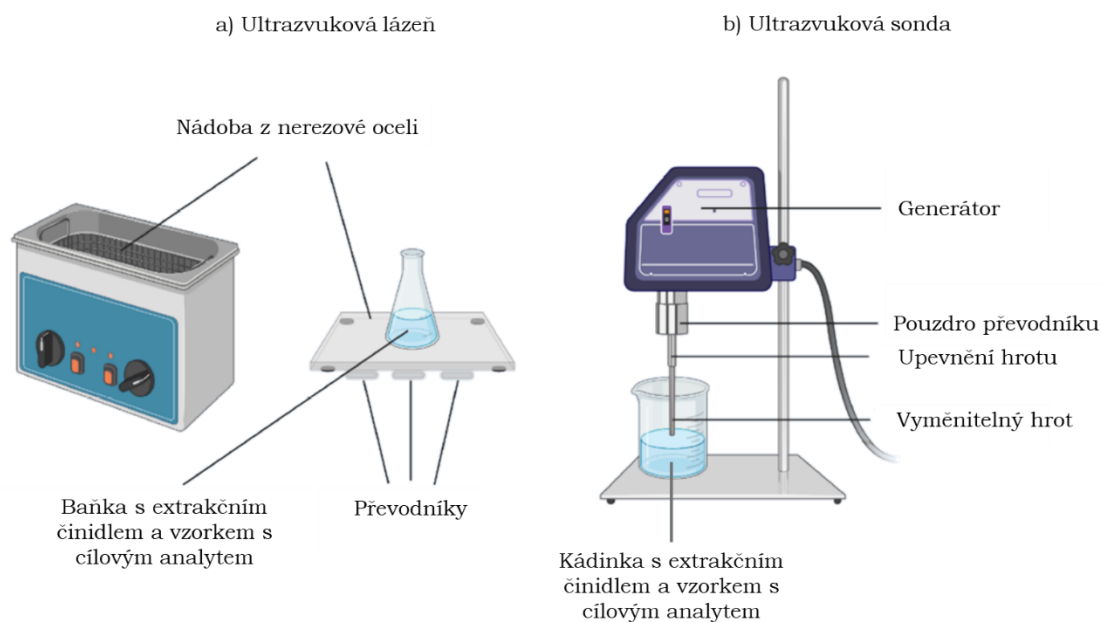


Obrázek 14 Postup extrakce vzorku metodou MSPD (převzato a upraveno z [61])

2.1.2.5 Ultrazvuková extrakce

Ultrazvuková extrakce (z angl. UAE – Ultrasound Assisted Extraction) je extrakční metoda spadající do principů zelené chemie. Je založena na působení ultrazvuku (v rozmezí frekvencí 20 kHz až 10 MHz) na extrakční činidlo se vzorkem. Účinkem ultrazvuku dochází k rozkmitání bublinek plynu (např. ze vzduchu) v kapalině, ty se následně do určité míry zvětšují, dokud nedojde k jejich kolapsu (implozi), což v přítomnosti tuhé látky způsobí několik fyzikálních dějů (např. eroze nebo fragmentace), jejichž výsledkem je narušení struktury povrchu tuhé látky působením rázové vlny. Implozí bublin také dochází ke vzniku mikroturbulencí, které zapříčiní promíchání narušené pevné látky a extrakčního činidla [62].

Používají se dvě základní metody UAE a sice ultrazvuková lázeň nebo ultrazvuková sonda (viz Obrázek 15). Při použití ultrazvukové lázně je kádinka se vzorkem a extrakčním činidlem ponořena do ultrazvukové nádoby s destilovanou vodou. Při druhé metodě je přímo do kádinky se vzorkem a extrakčním činidlem ponořena ultrazvuková sonda [62].



Obrázek 15 Provedení UAE – a) ultrazvuková lázeň, b) ultrazvuková sonda (převzato a upraveno z [62])

2.1.3 Metody stanovení

Pro stanovení DMT z rostlinných matric je možné využít chromatografické metody, které se častěji využívají v toxikologických laboratořích, ale i metody jako je nukleární magnetická rezonance (NMR) nebo infračervená spektrometrie (IR), které se používají spíše ve výzkumných laboratořích. Na rozdíl od chromatografických metod mají ale jisté výhody, jako je např. jejich nedestruktivní charakter a možnost měřit vzorky, jak v pevném, tak v kapalném skupenství [58].

2.1.3.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (z angl. GC – Gass Chromatography) je analytická separační metoda, která slouží jak ke kvalitativnímu, tak ke kvantitativnímu stanovení vzorku. Vzorek je aplikován mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze – fází mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou). Jelikož se jedná o chromatografii plynovou, jako mobilní fáze zde vystupuje plyn (musí být vůči vzorku inertní). Nejčastěji se jedná o vodík, dusík, helium nebo argon. Stejně tak vzorek je v plynném stavu, nebo je zplyněn po nástřiku. Stacionární fáze se nachází v chromatografické koloně, kde dochází k rozdělení vzorku na základě různé afinity ke stacionární fázi. Kolony jsou dvojího typu – náplňové a kapilární [56, 58].

Po rozdělení složek vzorku v koloně jsou postupně unášeny mobilní fází k detektoru, který reaguje na přítomnost jednotlivých analytů a převádí je na vhodný signál, který je dále počítačově zpracován. Existuje mnoho vhodných detektorů, jako např. plamenový ionizační detektor (z angl. FID – Flame Ionization Detector) nebo jeho modifikace dusíko-fosforový detektor (z angl. NPD – Nitrogen-Phosphorus Detector), detektor elektronového záchytu (z angl. ECD – Electron Capture Detector) nebo plamenově fotometrický detektor (z angl. FPD – Flame Photometric Detector). V současnosti je však jako detektor velmi používaný hmotnostní spektrometr (z angl. MS – Mass Spectrometer), jehož velkou výhodou je schopnost identifikovat neznámé složky směsi. Pro každou látku je totiž možné získat charakteristické hmotnostní spektrum a porovnat jej se známými spektry v knihovně spekter. Příklad MS spektra DMT je uveden v příloze (viz PŘÍLOHA A: Vybraná spektra DMT) [56, 58].

2.1.3.2 Nukleární magnetická rezonance

Nukleární magnetická rezonance neboli NMR (z angl. Nuclear Magnetic Resonance) je spektrální analytická metoda využívající magnetické pole. Toto pole se skládá z vnějšího magnetického pole (dané supravodivou cívkou přístroje), magnetického pole vyvolaného vazebnými elektrony a magnetickými poli okolních jader. Analyzovaný vzorek tedy musí obsahovat magneticky aktivní jádra (izotopy s nenulovým spinovým kvantovým číslem). Obdobně jako u jiných spektrálních metod je sledována absorpce nebo emise záření způsobená přechodem mezi různými energetickými hladinami [63].

NMR se od jiných metod odlišuje tím, že se měří spektra pro jednotlivé atomy zvlášť (1D spektra). Pokud se tato spektra kombinují dohromady, jedná se o 2D spektra. NMR spektrum je tedy pro danou konkrétní látku charakteristické a platí, že čím více atomů daná látka obsahuje, tím složitější je její spektrum. Tato metoda je vhodná zejména pro určení struktury neznámých látek. Příklad NMR spektra DMT je uveden v příloze (viz PŘÍLOHA A: Vybraná spektra DMT) [63].

2.1.3.3 Infračervená spektrometrie

Infračervená spektrometrie (z angl. IR - Infra Red spectrometry) je analytická spektrální metoda, která využívá infračervené záření jako zdroj a měření jeho transmitance či odrazu po průchodu vzorkem. V současnosti se používá hlavně metoda FTIR (z angl. Fourier Transformation Infra Red), která je založena na interferenci infračerveného záření a vyhodnocení této interference pomocí matematické metody Fourierovy transformace. Oblast infračerveného záření se dělí na blízkou, střední a vzdálenou, přičemž nejčastěji se měří v oblasti střední. Princip této metody je založen na změnách rotačních a/nebo vibračních stavů molekul po průchodu infračerveného záření. Tato metoda je vhodná zejména k identifikaci neznámých látek, ale i k určení koncentrace látek [58, 64, 65].

Výstupem analýzy je spektrum, což je závislost absorpance nebo transmitance na vlnočtu (převrácená hodnota vlnové délky). Toto spektrum popisuje absorpci IČ záření danou rotačně-vibračními přechody dané látky. Příklad IR spektra DMT je uveden v příloze (viz PŘÍLOHA A: Vybraná spektra DMT) [64].

Velkou výhodou této metody je, že je nedestruktivní a vzorek lze tedy po analýze dále používat nebo uchovávat [64].

2.1.4 Postup úpravy vzorků, extrakce a stanovení dle jednotlivých autorů pro rostlinné matrice

Dle autorů [66] se nejdříve upravilo pH vzorku Ayahuascy pomocí boritanového pufru a přidal se vnitřní standard (difenylhydramin). Následně byla směs aplikována na SPE kolonku C18, která byla kondicionována methanolem, deionizovanou vodou a boritanovým pufrem. Kolonka byla následně promyta deionizovanou vodou a vodným roztokem acetonitrilu. Poté byla vysušena ve vakuu a analyty byly eluovány methanolem. Vzniklý eluát byl následně analyzován metodou GC-NPD.

Dle autorů [67] byly vzorky navážených rostlin (*Psychotria viridis*, *Mimosa tenuiflora*) převedeny bez předchozí úpravy do varných baněk s ultračistou vodou. Tato směs byla zahřívána po dobu několika hodin

za občasného doplňování odpařené vody. Následně byl roztok lyofilizován a vzniklý lyofilizát byl rozpuštěn ve vodě a uchováván pro další použití. Část tohoto roztoku byla odebrána pro extrakci, pomocí fosfátového pufru bylo upraveno pH a byl přidán vnitřní standard promazin. SPE kolonky byly kondicionovány methanolem a deionizovanou vodou. Následně byl na kolonku nanesen roztok vzorku a poté byl proveden promývací krok (voda, kyselina chlorovodíková a *n*-hexan). Poté byla kolonka vysušena ve vakuu a byla provedena eluce s využitím směsi dichlormethanu, isopropanolu a amoniaku. Vzniklý roztok byl odpařen do sucha, rozpuštěn v methanolu a analyzován pomocí GC-MS.

Dle autorů [68] byla zakoupena sušená rostlinná směs (složení nebylo uvedeno) na internetu. K extrakci byla využita UAE, kdy jako extrakční činidlo byl použit methanol. Dále byl přidán vnitřní standard (prokain). Před analýzou byl vzorek odstředěn a zfiltrován. Vzorek byl analyzován s využitím LC-MS.

Dle autorů [69] byly vzorky kůry kořenů *Mimosa tenuiflora* rozemlety v mlýnku na prášek. Ten byl dále proset a vysušen do konstantní hmotnosti. Dále byl prášek přenesen do třecí misky a byla provedena MSPD s využitím Florisilu® (křemičitanu hořečnatého) jako sorbentu a hydroxidu sodného. Pomocí tloučku byl vzorek homogenizován společně se sorpčním materiálem. Po homogenizaci byl vzorek eluován pomocí *n*-hexanu v polypropylenové koloně naplněné skelnou vatou a bezvodým síranem sodným. Eluent byl zakoncentrován pomocí vakuové rotační odparky a následně analyzován metodou GC-MS.

Dle autorů [70] byly vzorky kůry kořenů *Mimosa tenuiflora* nakrájeny na menší kusy a poté rozmělněny v mixéru na velmi jemný prášek. Poté byl vzorek přenesen do roztoku kyseliny octové a vzniklá suspenze byla míchána několik hodin. Poté byla suspenze zfiltrována, filtrát byl jímán do dělicí nálevky a následně byl zalkalizován hydroxidem sodným. Poté byla provedena dvoustupňová LLE za použití methylenchloridu jako extrakčního činidla. Vzniklý extrakt byl vysušen síranem hořečnatým, zfiltrován a odpařen do sucha. Získané krystaly byly analyzovány metodou FTIR/ATR. A také

metodou $^1\text{H-NMR}$, při které byly získané krystaly rozpuštěny v deuterovaném methanolu.

Dle autorů [71] byla kůra kořenů *Mimosa tenuiflora* vysušena do konstantní hmotnosti a následně rozemlety v mlýnku. Poté byl vzorek přenesen do roztoku kyseliny chlorovodíkové a vzniklá suspenze byla sonikována v ultrazvukové lázni několik hodin při konstantní laboratorní teplotě. Následně byla suspenze zfiltrována, filtrát byl jímán do dělicí nálevky a následně byl zalkalizován hydroxidem sodným. Poté byla provedena dvoustupňová LLE za použití *n*-hexanu jako extrakčního činidla. Vzniklý extrakt byl a odpařen do sucha. Získané krystaly byly rozpuštěny v deuterovaném trichlormethanu a následně analyzovány metodou $^{13}\text{C-NMR}$.

Přehled všech popsaných postupů je shrnut v tabulce níže (viz Tabulka 7).

Tabulka 7 Přehled metod izolace a stanovení DMT z rostlinných matic

Matrice	Metoda	Příprava vzorku	LOQ	LOD	Linearita
Ayahuasca [66]	GC-NPD	SPE	0,02 mg/ml	0,01 mg/ml	0,02 - 4,0 mg/ml
<i>Psychotria viridis</i> , <i>Mimosa tenuiflora</i> [67]	GC-MS	SPE	0,04 µg/ml	0,04 ^h µg/ml	0,04 - 5 µg/ml
Rostlinná směs [68]	LC-MS	UAE	0,1 µg/ml	–	0,1 - 50 µg/ml
<i>Mimosa tenuiflora</i> [69]	GC-MS	MSPD	1,25 mg/g	0,12 mg/g	0,62 - 20 mg/g
<i>Mimosa tenuiflora</i> [70]	FTIR/ATR	LSE	–	–	–
<i>Mimosa tenuiflora</i> [70]	$^1\text{H-NMR}$	LSE	–	–	–
<i>Mimosa tenuiflora</i> [71]	$^{13}\text{C-NMR}$	LLE	–	–	–

^h Nebyla systematicky vyhodnocena a proto byla považována za LOQ.

2.2 Metody izolací a stanovení DMT z biologických matric

2.2.1 Biologické matrice

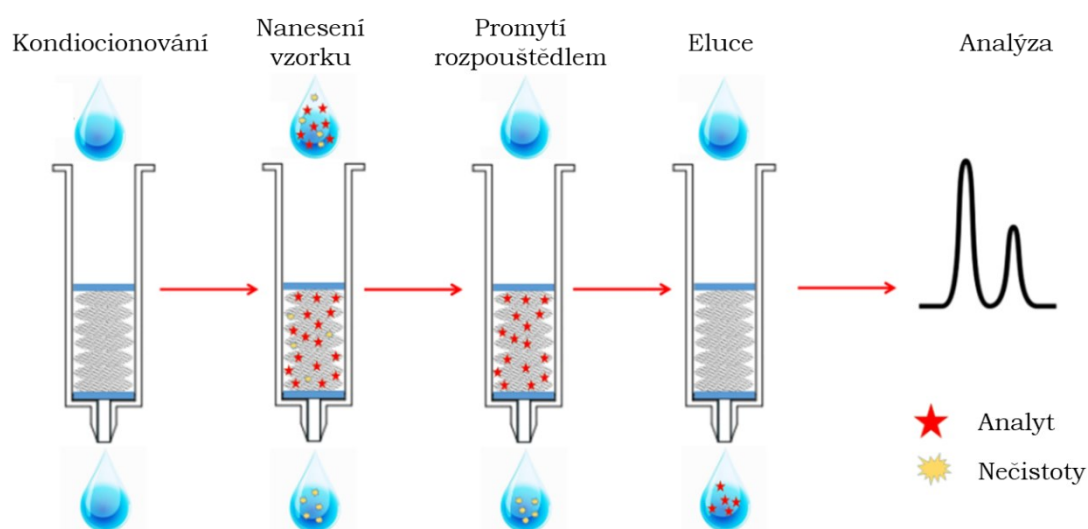
Pro izolaci a stanovení DMT je možné použít různé biologické matrice, jako např. krev, sérum, plazmu či moč. Méně často jsou využívány vlasy nebo nehty.

2.2.2 Metody izolací z biologických matric

Pro extrakci DMT z biologických matric mohou být využity některé extrakční metody, které byly popsány u matric rostlinných, jako je SPE, MSPD a další. Také je možné použít centrifugaci (u krve) a jiné speciální postupy (viz kapitola 2.2.4 Postup úpravy vzorků, extrakce a stanovení dle jednotlivých autorů pro biologické matrice) [34, 72].

2.2.2.1 Extrakce tuhou fází

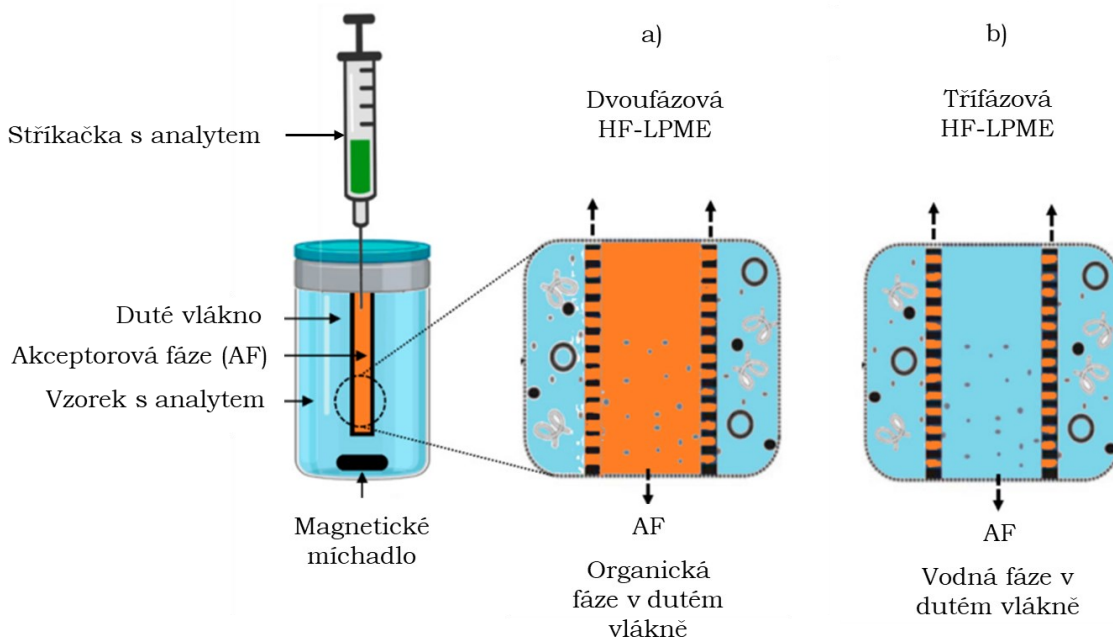
Extrakce tuhou fází (z angl. SPE – Solid Phase Extraction) využívá adsorpce analytu na tuhou látku (sorbent) díky jejich vzájemným interakcím, jako jsou van der Waalsovy síly, vodíkové vazby, dipól-dipólové a kation-aniontové interakce. Mezi některé výhody této techniky patří nízká spotřeba organických rozpouštědel, jednoduchost a vyšší účinnost oproti klasickým extrakčním metodám. SPE se nejčastěji provádí v extrakčních kolonkách s náplní sorbentu. Provedení SPE je znázorněno níže (viz Obrázek 16) [55, 58].



Obrázek 16 Postup extrakce tuhou fází (převzato a upraveno z [73])

2.2.2.2 Mikroextrakce využívající duté vlákno

Mikroextrakce využívající duté vlákno neboli HF-LPME (z angl. Hollow Fiber – Liquid Phase Micro Extraction) je extrakce do kapalné fáze pomocí dutého vlákna. Na konci špičky automatické pipety je umístěno porézní duté vlákno (nejčastěji z polypropylenu). Před počátkem extrakce je pipeta ponořena do organického rozpouštědla, které je nemísitelné s vodou (např. oktan-1-ol). Tím dojde k nasátí rozpouštědla do pórů vlákna a vytvoření kapalné membrány (označováno termínem z angl. SLM – Supported Liquid Membrane). Vnitřní část membrány je poté naplněna roztokem akceptoru a vlákno je následně ponořeno do roztoku se vzorkem, kde dojde za současného míchání k extrakci (na základě difuze iontů skrz membránu). Pokud je roztok akceptoru stejná kapalina jako ta, která se použila na vytvoření membrány, pak hovoříme o dvoufázové extrakci. Pokud je akceptorová kapalina vodný roztok, pak se jedná o třífázovou extrakci. Provedení HF-LPME je znázorněno níže (viz Obrázek 17) [74].



Obrázek 17 Provedení HF-LPME, a) dvoufázová HF-LPME, b) třífázová HF-LPME (převzato a upraveno z [76])

2.2.3 Metody stanovení z biologických matric

Ke stanovení DMT z biologických matric se nejčastěji využívá chromatografických metod, jako je GC, jejíž princip byl popsán u stanovení z rostlinných matric a LC, jejíž princip bude popsán v následující kapitole.

2.2.3.1 Kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie neboli LC (z angl. Liquid Chromatography) je analytická separační metoda. Je založena na dělení složek vzorku na základě různé afinity těchto složek ke stacionární fázi. Na rozdíl od GC je zde mobilní fáze kapalina. Mobilní fáze unáší vzorek chromatografickým systémem, kde dochází k interakci jednotlivých složek (analytů) se stacionární fázi a tomu úměrnému zadržování (retenci) těchto složek. Z toho vyplývá, že analyt s nižší afinitou ke stacionární fázi se bude v systému zadržovat kratší dobu a naopak. Rozseparované analyty jsou unášeny z kolony mobilní fáze dále na detektor, kde dochází k jejich postupné detekci. Je známo velké množství detektorů, z nichž nejpoužívanějšími jsou fotometrický detektor a hmotnostní spektrometr [56, 58, 75].

V současnosti převažuje používání vysokoúčinné kapalinové chromatografie neboli HPLC (z angl. High Performance Liquid Chromatography) a někdy také UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography), které se od sebe liší v některých parametrech (viz Tabulka 8) [77].

Tabulka 8 Porovnání metod kapalinové chromatografie (převzato a upraveno z [75, 77–79])

Parametr / Metoda	HPLC	UHPLC
Velikost částic náplně [μm]	3 - 10	< 2
Objemový průtok mobilní fáze [ml/min]	0,01 - 5	0,001 - 10
Pracovní tlak [MPa]	2 - 40	100 - 150
Objem nástřiku vzorku [μl]	5	2
Počet teoretických pater [m^{-1}]	1 000 - 100 000	Vyšší než u HPLC

2.2.4 Postup úpravy vzorků, extrakce a stanovení dle jednotlivých autorů pro biologické matrice

Dle autorů [80] byly odebrány vzorky moči od dobrovolníků, kteří se zúčastnili ayahuascových ceremonií. Ke vzorku moči byl přidán pevný chlorid sodný a vnitřní standard (deuterovaný DMT-d6). Dále bylo upraveno pH pomocí hydrogenuhličitanového pufru. Následně se do roztoku vzorku aplikovalo duté polypropylenové vlákno, které bylo impregnováno *n*-dekanolem a naplněno mravenčanovým pufrem. Poté byl systém LPME míchán na vortexu. Po míchání byla z vlákna odebrána akceptorová fáze, přenesena do zkumavky a vysušena pod proudem dusíku. Nakonec byl vzorek resuspendován v mobilní fázi a analyzován metodou UHPLC-MS/MS.

Dle autorů [34] byl vzorek plasmy získán po podání (i.v.) DMT dobrovolníkům v klinické studii. Vzorek byl smíchán s methanolem obsahujícím vnitřní standardy (DMT-d6 and 2-Me-IAA). Dále byly vysráženy proteiny ve vzorku pomocí acetonitrilu. Následně byl vzorek promíchán a centrifugován při pokojové teplotě. Poté byl odebrán supernatant, převeden do nové mikrozkuavky a odpařen do sucha. Nakonec byl vzorek rozpuštěn ve vodě s přidavkem kyseliny mravenčí a následně analyzován metodou LC-MS/MS.

Dle autorů [81] byly vzorky plasmy odebrány od dobrovolníků po perorálním podání Ayahuascy. Ke vzorku plasmy byl přidán boritanový pufr pro úpravu pH a vnitřní standard (DMT-d6). Vzorek byl dále nanesen na SPE kolonku C18, kde následně byl sorbent promyt deionizovanou vodou a vodným roztokem acetonitrilu. Po vysušení byly kolonky umístěny do vakua a byla provedena eluce methanolem. Eluát byl odpařen za mírného proudu dusíku do sucha. Nakonec byl vzorek rozpuštěn v mobilní fázi (směs methanolu a kyseliny mravenčí) a analyzován metodou LC-MS/MS.

Dle autorů [72] byly odebrány vzorky vlasů od dobrovolníků, kteří v minulosti užívali ayahuascu. Vzorky nastříhaných vlasů byly dvakrát promyty methanolem a dvakrát diethyletherem. Poté byly vysušeny a následně byly přidány vnitřní standardy (MES-d9 a MDPA). Dále bylo přidáno komerční činidlo VMA-TM3® a vzniklá směs byla zahřívána v termobloku. Nakonec byla

tato směs ochlazená, naředěná vodou a analyzována metodou UHPLC-MS/MS.

Přehled všech popsaných postupů je sumarizován v tabulce níže (viz Tabulka 9).

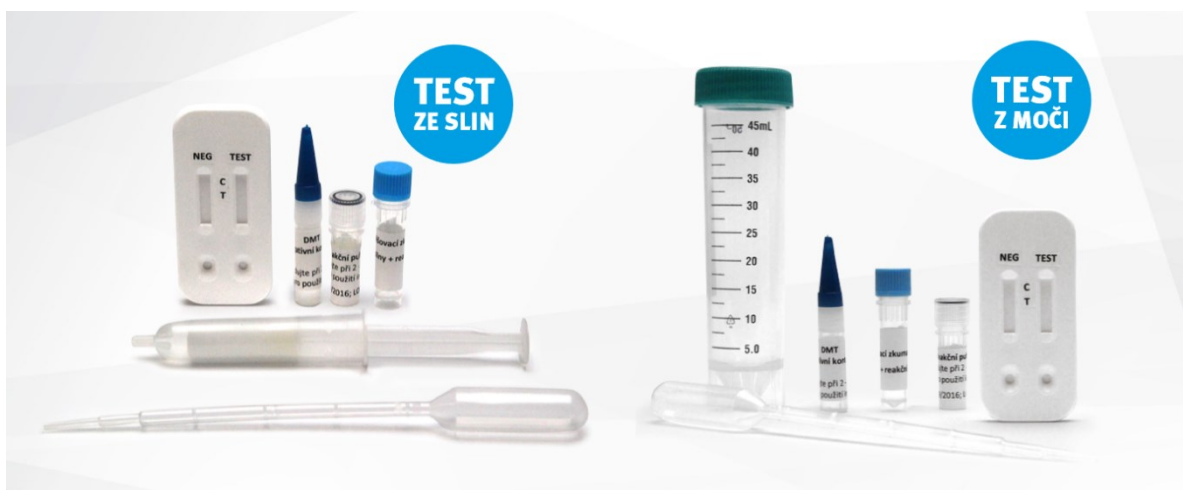
Tabulka 9 Přehled metod izolace a stanovení DMT z biologických matric

Matrice	Metoda	Příprava vzorku	LOQ [ng/ml]	LOD [ng/ml]	Linearita [ng/ml]
Moč	UHPLC-MS/MS [80]	HF-LPME	5,0	1,0	5 - 200
	LC-MS/MS [34]	Viz text výše	0,05	–	94,14 - 941,35
Plasma	LC-MS/MS [81]	SPE	0,2	0,1	0,5 - 100
Vlasy	UHPLC-MS/MS [72]	Viz text výše	0,03	0,01	100 - 10 000

2.2.4.1 Terénní testovací sady

K orientačnímu stanovení přítomnosti DMT v moči a ve slinách lze použít některé testovací sady. Jedná se pouze o prokázání přítomnosti DMT v uvedených tělních tekutinách. Tyto metody nelze použít k určení koncentrace. Obecně můžeme říct, že nejsou tak citlivé, jako běžné laboratorní metody, jelikož mají vyšší limity detekce (20 ng/ml pro moč a 40 ng/ml pro sliny) [82, 83].

Tyto metody jsou většinou založeny na imunochemických reakcích mezi protilátkou a antigenem. Jejich výhodou je rychlost a možnost provedení testu v terénu, jelikož nevyžadují žádné přístrojové vybavení. Příklad terénních testovacích souprav je uveden na následujícím obrázku (viz Obrázek 18) [82, 83].



Obrázek 18 Testovací sady k rychlému stanovení DMT ve slinách a v moči (převzato z [84])

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat rešerši na téma DMT, včetně jeho historie, výskytu, popisu chemických, fyzikálních a farmakologických vlastností. Práce se zaměřila i na jeho fyziologické a psychologické účinky společně s popisem jeho užívání, a to jak rekreačním, tak rituálním. Bylo také popsáno jeho potenciální využití v psychoterapii.

V současnosti se stále více testuje použití psychedelických látek v psychoterapii, anebo už se dokonce používají v praxi. Jelikož se používání DMT ukázalo jako účinné v boji s některými psychickými poruchami, je možné, že se jeho užívání v budoucnu také zavede do praxe.

Jednou z nejzajímavějších skutečností je fakt, že se DMT nachází v lidském organismu. Stále však není jasné, jakou roli přesně zastává a jestli má nějaké fyziologické funkce. Stejně tak nejsou přesně popsány interakce s některými receptory a není zcela objasněno, které receptory se podílejí na jeho psychoaktivním působení. Tyto informace jsou tedy předmětem dalšího zkoumání.

Ve druhé části práce byly popsány metody vhodné k extrakci DMT z rostlinných a biologických matric a také metody používané ke stanovení DMT v těchto matricích. U extrakčních metod byly popsány jak starší a dnes již méně používané metody, jako je extrakce kapalina-kapalina (LLE) či extrakce kapalina-pevná látka (LSE) v Soxhletově extraktoru, tak novější a jednodušší metody na provedení, jako je mikroextrakce tuhou fází (SPME), matricová disperze tuhou fází (MSPD), ultrazvuková asistovaná extrakce (UAE) a další. Z metod stanovení byly vybrány a popsány ty, které jsou v současné době nejvíce používané v toxikologických laboratořích, např. plynová chromatografie (GC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), ale také metody, které se používají spíše v laboratořích výzkumných, jako je infračervená spektrometrie (IR) a nukleární magnetická rezonance (NMR).

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] STRASSMAN, Rick. *DMT: the spirit molecule: a doctor's revolutionary research into the biology of near-death and mystical experiences*. Rochester, Vt: Park Street Press, 2001. ISBN 978-0-89281-927-0.
- [2] CAMERON, Lindsay P. a David E. OLSON. Dark Classics in Chemical Neuroscience: N,N-Dimethyltryptamine (DMT). *ACS Chemical Neuroscience* [online]. 2018, **9**(10), 2344–2357. Dostupné z: doi:10.1021/acschemneuro.8b00101
- [3] Application of analytical methods for the structural characterization and purity assessment of N,N-dimethyltryptamine, a potent psychedelic agent isolated from *Mimosa tenuiflora* inner barks. *Microchemical Journal* [online]. 2013, **109**, 78–83. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2012.03.033
- [4] FRANZEN, Fr a H. GROSS. Tryptamine, N,N-Dimethyltryptamine, N,N-Dimethyl-5-hydroxytryptamine and 5-Methoxytryptamine in Human Blood and Urine. *Nature* [online]. 1965, **206**(4988), 1052–1052. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/2061052a0
- [5] GILLIN, J. C., J. KAPLAN, R. STILLMAN a R. J. WYATT. The psychedelic model of schizophrenia: the case of N,N-dimethyltryptamine. *The American Journal of Psychiatry* [online]. 1976, **133**(2), 203–208. ISSN 0002-953X. Dostupné z: doi:10.1176/ajp.133.2.203
- [6] BARKER, Steven A. N, N-Dimethyltryptamine (DMT), an Endogenous Hallucinogen: Past, Present, and Future Research to Determine Its Role and Function. *Frontiers in Neuroscience* [online]. 2018, **12**, 536. ISSN 1662-4548. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2018.00536
- [7] STRASSMAN, Rick J. Dose-Response Study of N,N-Dimethyltryptamine in Humans: I. Neuroendocrine, Autonomic, and Cardiovascular Effects. *Archives of General Psychiatry* [online]. 1994, **51**(2), 85. ISSN 0003-990X. Dostupné z: doi:10.1001/archpsyc.1994.03950020009001
- [8] *Zaostreno 2021-02 Narodni psychedelicky vyzkum_v20210809.pdf* [online]. [vid. 2023-05-20]. Dostupné z: https://www.drogy-info.cz/data/obj_files/33509/1104/Zaostreno%202021-02%20Narodni%20psychedelicky%20vyzkum_v20210809.pdf
- [9] HORÁK, M., Elizabeth MATEOS a A. BELLO. *Bufo alvarius*: Literary evidence and controversies surrounding its traditional use. *Medicina Naturista*. 2019, **13**, 43–49.
- [10] SCHULTES, Richard Evans, Albert HOFMANN a Christian RÄTSCH. *Plants of the gods: their sacred, healing, and hallucinogenic powers*. Rev. and expanded ed. Rochester, Vt: Healing Arts Press, 2001. ISBN 978-0-89281-979-9.

- [11] *Desmanthus illinoensis* - *Plant Finder* [online]. [vid. 2023-06-23]. Dostupné z: <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=280349>
- [12] NAVRATILOVA, Zdenka a Jiri PATOCKA. Chrastice rákosovitá: rostlina k zamyšlení. *Biologie*. 2015, **3**, 11.
- [13] *Toxicology* - Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc - Chrastice rákosovitá: všestranně použitelná rostlina [online]. [vid. 2023-06-06]. Dostupné z: <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=699>
- [14] WALLACH, J. V. Endogenous hallucinogens as ligands of the trace amine receptors: A possible role in sensory perception. *Medical Hypotheses* [online]. 2009, **72**(1), 91–94. ISSN 0306-9877. Dostupné z: doi:10.1016/j.mehy.2008.07.052
- [15] CARBONARO, Theresa M. a Michael B. GATCH. Neuropharmacology of N,N-dimethyltryptamine. *Brain Research Bulletin* [online]. 2016, **126**, Neurobiology of emerging psychoactive drugs, 74–88. ISSN 0361-9230. Dostupné z: doi:10.1016/j.brainresbull.2016.04.016
- [16] NICHOLS, David E. N,N -dimethyltryptamine and the pineal gland: Separating fact from myth. *Journal of Psychopharmacology* [online]. 2018, **32**(1), 30–36. ISSN 0269-8811, 1461-7285. Dostupné z: doi:10.1177/0269881117736919
- [17] VITALE, Arturo A., Alicia B. POMILIO, Carlos O. CAÑELLAS, Martín G. VITALE, Eva Maria PUTZ a Jorge CIPRIAN-OLLIVIER. In Vivo Long-Term Kinetics of Radiolabeled N,N-Dimethyltryptamine and Tryptamine. *Journal of Nuclear Medicine* [online]. 2011, **52**(6), 970–977. ISSN 0161-5505, 2159-662X. Dostupné z: doi:10.2967/jnumed.110.083246
- [18] *DMT | FRANK* [online]. [vid. 2023-05-13]. Dostupné z: <https://www.talktofrank.com/drug/dimethyltryptamine>
- [19] BRITO-DA-COSTA, Andreia Machado, Diana DIAS-DA-SILVA, Nelson G. M. GOMES, Ricardo Jorge DINIS-OLIVEIRA a Áurea MADUREIRA-CARVALHO. Toxicokinetics and Toxicodynamics of Ayahuasca Alkaloids N,N-Dimethyltryptamine (DMT), Harmine, Harmaline and Tetrahydroharmine: Clinical and Forensic Impact. *Pharmaceuticals* [online]. 2020, **13**(11), 334. ISSN 1424-8247. Dostupné z: doi:10.3390/ph13110334
- [20] GOOD, Meghan, Zelah JOEL, Tiffanie BENWAY, Carol ROUTLEDGE, Chris TIMMERMANN, David ERRITZOE, Richard WEAVER, Graham ALLEN, Charlotte HUGHES, Helen TOPPING, Amy BOWMAN a Ellen JAMES. Pharmacokinetics of N,N-dimethyltryptamine in Humans. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* [online]. 2023, **48**(3), 311–327. ISSN 2107-0180. Dostupné z: doi:10.1007/s13318-023-00822-y

- [21] PUBCHEM. *N,N-Dimethyltryptamine* [online]. [vid. 2023-04-20]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6089>
- [22] N,N-Dimethyltryptamine. *American Chemical Society* [online]. [vid. 2023-05-13]. Dostupné z: <https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/d/dimethyltryptamine.html>
- [23] SHULGIN, Alexander T. Dmt & Tma-2. *Journal of Psychedelic Drugs* [online]. 1976, **8**(2), 167–169. ISSN null. Dostupné z: doi:10.1080/02791072.1976.10471846
- [24] HÄFELINGER, Günter, Manfred NIMTZ, Volker HORSTM a Thomas BENZ. Untersuchungen zur Trifluoracetylierung der Methyl-derivate von Tryptamin und Serotonin mit verschiedenen Derivatisierungsreagentien: Synthesen, Spektroskopie sowie analytische Trennungen mittels Kapillar-GC / Trifluoroacetylation of Methylated -Derivatives of Tryptamine and Serotonine by Different Reagents: Synthesis, Spectroscopic Characterizations, and Separations by Capillary-Gas-Chromatography. *Zeitschrift für Naturforschung B* [online]. 1999, **54**(3), 397–414. ISSN 1865-7117. Dostupné z: doi:10.1515/znb-1999-0319
- [25] GLENNON, Richard A. a Peter K. GESSNER. Serotonin receptor binding affinities of tryptamine analogs. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 1979, **22**(4), 428–432. ISSN 0022-2623, 1520-4804. Dostupné z: doi:10.1021/jm00190a014
- [26] RUOHO, Arnold E., Abdol R. HAJIPOUR, Uyen B. CHU a Dominique FONTANILLA. SIGMA-1 RECEPTOR LIGANDS AND METHODS OF USE [online]. PCT/US2009/064970. 5 2010. Dostupné z: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/041460114/publication/WO2010059711A1?q=pn%3DWO2010059711>
- [27] STIEDL, Oliver, Elpiniki PAPPA, Åsa KONRADSSON-GEUKEN a Sven Ove ÖGREN. The role of the serotonin receptor subtypes 5-HT_{1A} and 5-HT₇ and its interaction in emotional learning and memory. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2015, **6** [vid. 2023-05-19]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2015.00162>
- [28] MAURICE, Tangui a Tsung-Ping SU. The pharmacology of sigma-1 receptors. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. 2009, **124**(2), 195–206. ISSN 0163-7258. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2009.07.001
- [29] NGUYEN, Linda, Brandon P. LUCKE-WOLD, Shona A. MOOKERJEE, John Z. CAVENDISH, Matthew J. ROBSON, Anna L. SCANDINARO a Rae R. MATSUMOTO. Role of sigma-1 receptors in neurodegenerative diseases. *Journal of Pharmacological Sciences* [online]. 2015, **127**(1), 17–29. ISSN 1347-8613. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphs.2014.12.005
- [30] JAMES, Edward, Joachim KEPPLER, Thomas L ROBERTSHAW a Ben SESSA. N,N-dimethyltryptamine and Amazonian ayahuasca plant medicine.

Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental [online]. 2022, **37**(3), e2835. ISSN 1099-1077. Dostupné z: doi:10.1002/hup.2835

[31] KARGBO, Robert B. Application of Deuterated N,N-Dimethyltryptamine in the Potential Treatment of Psychiatric and Neurological Disorders. *ACS Medicinal Chemistry Letters* [online]. 2022, **13**(9), 1402–1404. Dostupné z: doi:10.1021/acsmchemlett.2c00354

[32] XU, Zhengrong a Qian LI. TAAR Agonists. *Cellular and Molecular Neurobiology* [online]. 2020, **40**(2), 257–272. ISSN 1573-6830. Dostupné z: doi:10.1007/s10571-019-00774-5

[33] SU, Tsung-Ping, Teruo HAYASHI a D. Bruce VAUPEL. When the Endogenous Hallucinogenic Trace Amine N,N-Dimethyltryptamine Meets the Sigma-1 Receptor. *Science Signaling* [online]. 2009, **2**(61) [vid. 2023-05-12]. ISSN 1945-0877, 1937-9145. Dostupné z: doi:10.1126/scisignal.261pe12

[34] ECKERNÄS, Emma, Adam BENDRIOUA, Chiara CANCELLERINI, Christopher TIMMERMANN, Robin CARHART-HARRIS, Kurt-Jürgen HOFFMANN a Michael ASHTON. Development and application of a highly sensitive LC-MS/MS method for simultaneous quantification of N,N-dimethyltryptamine and two of its metabolites in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2022, **212**, 114642. ISSN 0731-7085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2022.114642

[35] RIBA, Jordi, Ethan H. MCILHENNY, José Carlos BOUSO a Steven A. BARKER. Metabolism and urinary disposition of N , N -dimethyltryptamine after oral and smoked administration: a comparative study: Metabolism and disposition of oral and smoked DMT. *Drug Testing and Analysis* [online]. 2015, **7**(5), 401–406. ISSN 19427603. Dostupné z: doi:10.1002/dta.1685

[36] DOS SANTOS, Rafael G., Eva GRASA, Marta VALLE, Maria Rosa BALLESTER, José Carlos BOUSO, Josep F. NOMDEDÉU, Rosa HOMES, Manel J. BARBANOJ a Jordi RIBA. Pharmacology of ayahuasca administered in two repeated doses. *Psychopharmacology* [online]. 2012, **219**(4), 1039–1053. ISSN 1432-2072. Dostupné z: doi:10.1007/s00213-011-2434-x

[37] SHEWAN, David, Phil DALGARNO a Gerda REITH. Perceived risk and risk reduction among ecstasy users: the role of drug, set, and setting. *International Journal of Drug Policy* [online]. 2000, **10**(6), 431–453. ISSN 0955-3959. Dostupné z: doi:10.1016/S0955-3959(99)00038-9

[38] DLEŠTÍKOVÁ, Tereza. (De)criminalisation of psychedelics in the Czech Republic—Where are we heading in drug policy and legislation? *International Journal of Drug Policy* [online]. 2022, **110**, 103900. ISSN 0955-3959. Dostupné z: doi:10.1016/j.drugpo.2022.103900

[39] JACOB, Michael S. a David E. PRESTI. Endogenous psychoactive tryptamines reconsidered: an anxiolytic role for dimethyltryptamine. *Medical*

Hypotheses [online]. 2005, **64**(5), 930–937. ISSN 0306-9877. Dostupné z: doi:10.1016/j.mehy.2004.11.005

[40] CHOMYNOVÁ, Pavla, Kateřina GROHMANNOVÁ, Zuzana DVOŘÁKOVÁ, Tereza ČERNÍKOVÁ, Barbora ORLÍKOVÁ, Zdeněk ROUS, Hana JAROŠÍKOVÁ, Eva FRANKOVÁ, Ladislav DÉKÁNY, Hana FIDESOVÁ a Jiří VOPRAVIL. o nelegálních drogách v České republice. nedatováno.

[41] BARBIC, David, Justin FERNANDES, Caroline EBERDT a Apu CHAKRABORTY. N,N-Dimethyltryptamine: DMT-induced psychosis. *The American Journal of Emergency Medicine* [online]. 2020, **38**(9), 1961.e1-1961.e2. ISSN 0735-6757. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajem.2020.04.090

[42] What is DMT and what are the effects, dosage, and risks? - Drug Science. *drugscience.org.uk* [online]. [vid. 2023-05-17]. Dostupné z: <https://www.drugscience.org.uk/drug-information/dmt/>

[43] GRAHAM, Owain J., Gary Rojas SAUCEDO a Matteo POLITI. Experiences of Listening to Icaros during Ayahuasca Ceremonies at Centro Takiwasi: An Interpretive Phenomenological Analysis. *Anthropology of Consciousness* [online]. 2023, **34**(1), 35–67. ISSN 1556-3537. Dostupné z: doi:10.1111/anoc.12170

[44] HOULE, Sherilyn K. D., Derek EVANS, Caitlin A. CARTER a Patricia SCHLAGENHAUF. Ayahuasca and the traveller: A scoping review of risks and possible benefits. *Travel Medicine and Infectious Disease* [online]. 2021, **44**, 102206. ISSN 1477-8939. Dostupné z: doi:10.1016/j.tmaid.2021.102206

[45] MCKENNA, Dennis J. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. 2004, **102**(2), Psychoactive Plants, 111–129. ISSN 0163-7258. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2004.03.002

[46] RODRÍGUEZ, Luisina, Andrés LÓPEZ, Guillermo MOYNA, Gustavo A. SEOANE, Danilo DAVYT, Álvaro VÁZQUEZ, Gonzalo HERNÁNDEZ a Ignacio CARRERA. New Insights into the Chemical Composition of Ayahuasca. *ACS Omega* [online]. 2022, **7**(14), 12307–12317. Dostupné z: doi:10.1021/acsomega.2c00795

[47] DOMÍNGUEZ-CLAVÉ, Elisabet, Joaquim SOLER, Matilde ELICES, Juan C. PASCUAL, Enrique ÁLVAREZ, Mario DE LA FUENTE REVENGA, Pablo FRIEDLANDER, Amanda FEILDING a Jordi RIBA. Ayahuasca: Pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. *Brain Research Bulletin* [online]. 2016, **126**, Neurobiology of emerging psychoactive drugs, 89–101. ISSN 0361-9230. Dostupné z: doi:10.1016/j.brainresbull.2016.03.002

[48] RODD, Robin. Snuff Synergy: Preparation, Use and Pharmacology of *Yopo* and *Banisteriopsis Caapi* Among the Piaroa of Southern Venezuela. *Journal of Psychoactive Drugs* [online]. 2002, **34**(3), 273–279. ISSN 0279-1072, 2159-9777. Dostupné z: doi:10.1080/02791072.2002.10399963

- [49] FREYE, Enno. Dimethyltryptamine (DMT) a Psychedelic. In: Enno FREYE *Pharmacology and Abuse of Cocaine, Amphetamines, Ecstasy and Related Designer Drugs* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009 [vid. 2023-05-13], s. 219–220. ISBN 978-90-481-2447-3. Dostupné z: doi:10.1007/978-90-481-2448-0_35
- [50] KADRIU, Bashkim, Maximillian GREENWALD, Ioline D HENTER, Jessica R GILBERT, Christoph KRAUS, Lawrence T PARK a Carlos A ZARATE Jr. Ketamine and Serotonergic Psychedelics: Common Mechanisms Underlying the Effects of Rapid-Acting Antidepressants. *International Journal of Neuropsychopharmacology* [online]. 2021, **24**(1), 8–21. ISSN 1461-1457. Dostupné z: doi:10.1093/ijnp/pyaa087
- [51] *Forced Swim Test - přehled | Témata ScienceDirect* [online]. [vid. 2023-06-06]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/forced-swim-test>
- [52] RODRIGUES, Alexandra V. S. L., Francisco Jcg ALMEIDA a Maria A. VIEIRA-COELHO. Dimethyltryptamine: Endogenous Role and Therapeutic Potential. *Journal of Psychoactive Drugs* [online]. 2019, **51**(4), 299–310. ISSN 0279-1072. Dostupné z: doi:10.1080/02791072.2019.1602291
- [53] HAMILL, Jonathan, Jaime HALLAK, Serdar M. DURSUN a Glen BAKER. Ayahuasca: Psychological and Physiologic Effects, Pharmacology and Potential Uses in Addiction and Mental Illness. *Current Neuropharmacology* [online]. 2019, **17**(2), 108–128. ISSN 1570159X. Dostupné z: doi:10.2174/1570159X16666180125095902
- [54] GAUJAC, Alain, Sandro NAVICKIENE, Mark I. COLLINS, Simon D. BRANDT a Jailson Bittencourt DE ANDRADE. Analytical techniques for the determination of tryptamines and β -carbolines in plant matrices and in psychoactive beverages consumed during religious ceremonies and neo-shamanic urban practices. *Drug Testing and Analysis* [online]. 2012, **4**(7–8), 636–648. ISSN 1942-7611. Dostupné z: doi:10.1002/dta.1343
- [55] ADAM, Martin, Petra BAJEROVÁ a Karel VENTURA. Odběr a příprava vzorků k analýze - extrakční techniky, pasivní vzorkování organických polutantů. In: *Analýza organických látek*. 1. vydání. Český Těšín: 2 THETA ASE s.r.o., 2014, s. 25–47. ISBN 978-80-260-7085-6.
- [56] ZÁRUBA, Kamil a kol. *Analytická chemie (1. díl)*. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [57] ROSSI, Giordano Novak, Eduardo José CREVELIN, Gabriela de Oliveira SILVEIRA, Maria Eugênia Costa QUEIROZ, Mauricio YONAMINE, Jaime Eduardo Cecilio HALLAK a Rafael Guimarães dos SANTOS. Internet method for the extraction of N,N-dimethyltryptamine from *Mimosa hostilis* roots: Does it really extract dimethyltryptamine? *Journal of Psychedelic Studies* [online]. 2019, **3**(1), 1–6. Dostupné z: doi:10.1556/2054.2019.009

- [58] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 3. upravené vydání. Ostrava: Nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [59] ABDULRA'UF, Lukman, Wasiiu HAMMED a Guanhuat TAN. SPME Fiber for Analysis of Pesticide Residues in Fruits an Vegetables: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2012, **42**, 152–161. Dostupné z: doi:10.1080/10408347.2011.632315
- [60] KRISTENSON, E. Maria, Udo A. Th. BRINKMAN a Lourdes RAMOS. Recent advances in matrix solid-phase dispersion. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2006, **25**(2), 96–111. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2005.05.011
- [61] PÉREZ, Rosa Ana, Beatriz ALBERO a José L. TADEO. 19 - Matrix solid phase dispersion. In: Colin F. POOLE, ed. *Solid-Phase Extraction* [online]. B.m.: Elsevier, 2020 [vid. 2023-06-11], Handbooks in Separation Science, s. 531–549. ISBN 978-0-12-816906-3. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816906-3.00019-4
- [62] CARREIRA-CASAI, Anxo, Paz OTERO, Pascual GARCIA-PEREZ, Paula GARCIA-OLIVEIRA, Antia G. PEREIRA, Maria CARPENA, Anton SORIA-LOPEZ, Jesus SIMAL-GANDARA a Miguel A. PRIETO. Benefits and Drawbacks of Ultrasound-Assisted Extraction for the Recovery of Bioactive Compounds from Marine Algae. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2021, **18**(17), 9153. ISSN 1661-7827. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph18179153
- [63] TKADLECOVÁ, Marcela a Antonín LYČKA. Nukleární magnetická rezonance. In: *Analýza organických látek*. 2. vydání. Český Těšín: 2 THETA ASE s.r.o., 2014, s. 275–289. ISBN 978-80-260-7085-6.
- [64] KLUČÁKOVÁ, Martina. Infračervená spektroskopie. In: *Analýza organických látek*. 2. vydání. Český Těšín: 2 THETA ASE s.r.o., 2014, s. 248–255. ISBN 978-80-260-7085-6.
- [65] *Infračervená spektroskopie a její techniky* [online]. [vid. 2023-06-12]. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/lms/Zverze/Infrared.htm>
- [66] PIRES, Ana Paula Salum, Carolina Dizioli Rodrigues DE OLIVEIRA, Sidnei MOURA, Felipe Augusto DÖRR, Wagner Abreu E. SILVA a Mauricio YONAMINE. Gas chromatographic analysis of dimethyltryptamine and β -carboline alkaloids in ayahuasca, an amazonian psychoactive plant beverage. *Phytochemical Analysis* [online]. 2009, **20**(2), 149–153. ISSN 1099-1565. Dostupné z: doi:10.1002/pca.1110
- [67] SIMÃO, Ana Y., Joana GONÇALVES, Débora CARAMELO, Tiago ROSADO, Mário BARROSO, José RESTOLHO, Nicolás FERNÁNDEZ, Jesus RODILLA, Ana P. DUARTE, Ana C. CRISTÓVÃO a Eugenia GALLARDO. Determination of N,N-dimethyltryptamine and beta-carbolines in plants used to prepare ayahuasca beverages by means of solid-phase extraction and gas-

chromatography–mass spectrometry. *SN Applied Sciences* [online]. 2020, **2**(3), 463. ISSN 2523-3971. Dostupné z: doi:10.1007/s42452-020-2296-0

[68] KIKURA-HANAJIRI, R., M. HAYASHI, K. SAISHO a Y. GODA. Simultaneous determination of nineteen hallucinogenic tryptamines/ β -calbolines and phenethylamines using gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–electrospray ionisation–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* [online]. 2005, **825**(1), 42nd Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists, 29–37. ISSN 1570-0232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2005.01.041

[69] GAUJAC, Alain, Adriano AQUINO, Sandro NAVICKIENE a Jailson Bittencourt DE ANDRADE. Determination of N,N-dimethyltryptamine in *Mimosa tenuiflora* inner barks by matrix solid-phase dispersion procedure and GC–MS. *Journal of Chromatography B* [online]. 2012, **881–882**, 107–110. ISSN 1570-0232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2011.11.014

[70] FASANELLO, J. a Andrea D. PLACKE. The Isolation, Identification, and Quantitation of Dimethyltryptamine (DMT) in *Mimosa hostilis*. In: [online]. 2007 [vid. 2023-06-23]. Dostupné z: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Isolation%2C-Identification%2C-and-Quantitation-of-Fasanello-Placke/1655af40f9dd772813a0ce011273535c3fe4877e>

[71] GAUJAC, Alain, Sabrina Teixeira MARTINEZ, Arão Araújo GOMES, Sandro José DE ANDRADE, Angelo da Cunha PINTO, Jorge Mauricio DAVID, Sandro NAVICKIENE a Jailson Bittencourt DE ANDRADE. Application of analytical methods for the structural characterization and purity assessment of N,N-dimethyltryptamine, a potent psychedelic agent isolated from *Mimosa tenuiflora* inner barks. *Microchemical Journal* [online]. 2013, **109**, Selected Contributions from the 16th Brazilian Meeting on Analytical Chemistry, 78–83. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2012.03.033

[72] PICHINI, Simona, Emilia MARCHEI, Oscar GARCÍA-ALGAR, Arelis GOMEZ, Rita DI GIOVANNANDREA a Roberta PACIFICI. Ultra-high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of hallucinogenic drugs in hair of psychedelic plants and mushrooms consumers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2014, **100**, 284–289. ISSN 1873-264X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2014.08.006

[73] AMIRI, Amirhassan, Mehdi BAGHAYERI, Fatemeh KARIMABADI, Ferial GHAEMI a Behrooz MALEKI. Graphene oxide/polydimethylsiloxane-coated stainless steel mesh for use in solid-phase extraction cartridges and extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Microchimica Acta* [online]. 2020, **187**. Dostupné z: doi:10.1007/s00604-020-4193-z

[74] GJELSTAD, Astrid a Stig PEDERSEN-BJERGAARD. Perspective: Hollow fibre liquid-phase microextraction - principles, performance, applicability, and

future directions. *Scientia Chromatographica* [online]. 2013, **5**, 181–189. Dostupné z: doi:10.4322/sc.2014.003

[75] ČERMÁKOVÁ, Ludmila. *Analytická chemie 2*. 2. nezměněné vydání. Praha: SNTL, 1980. ISBN 04-603-80.

[76] CÂMARA, José S., Rosa PERESTRELO, Basit OLAYANJU, Cristina V. BERENQUER, Abuzar KABIR a Jorge A. M. PEREIRA. Overview of Different Modes and Applications of Liquid Phase-Based Microextraction Techniques. *Processes* [online]. 2022, **10**(7), 1347. ISSN 2227-9717. Dostupné z: doi:10.3390/pr10071347

[77] T, Durai Ananda Kumar, Sai CHARAN, Venkateswarlu A a Supriya Reddy K. Evolution of liquid chromatography: Technologies and applications. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2020, **11**(3), 3204–3211. ISSN 0975-7538.

[78] JANDERA, Pavel. Kapalinová chromatografie (LC). In: *Analýza organických látek*. 1. vydání. Český Těšín: 2 THETA ASE s.r.o., 2014, s. 101–132. ISBN 978-80-260-7085-6.

[79] NOVÁKOVÁ, Lucie, Pavel SVOBODA a Jakub PAVLÍK. Chapter 29 - Ultra-high performance liquid chromatography. In: Salvatore FANALI, Paul R. HADDAD, Colin F. POOLE a Marja-Liisa RIEKKOLA, ed. *Liquid Chromatography (Second Edition)* [online]. B.m.: Elsevier, 2017 [vid. 2023-06-10], s. 719–769. ISBN 978-0-12-805393-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-805393-5.00029-4

[80] SILVEIRA, Gabriela de Oliveira, Felipe Rebello LOURENÇO, Vitor BRUNO a Mauricio YONAMINE. Fast Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction as a Greener Alternative for the Determination of N,N-Dimethyltryptamine and Harmala Alkaloids in Human Urine. *Frontiers in Chemistry* [online]. 2020, **8** [vid. 2023-06-09]. ISSN 2296-2646. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2020.558501>

[81] OLIVEIRA, Carolina Dizioli Rodrigues, Guilherme Gonçalves OKAI, José Luiz DA COSTA, Rafael Menck DE ALMEIDA, Diogo OLIVEIRA-SILVA a Mauricio YONAMINE. Determination of dimethyltryptamine and β -carbolines (ayahuasca alkaloids) in plasma samples by LC-MS/MS. *Bioanalysis* [online]. 2012, **4**(14), 1731–1738. ISSN 1757-6199. Dostupné z: doi:10.4155/bio.12.124

[82] *Diagnostická souprava pro rychlé stanovení požití nových syntetických drog DMT test na moč* [online]. B.m.: DYNEX LABORATORIES, s.r.o. Dostupné z: https://www.dynex.cz/data/machines/navod_dmt_moc_final_rev2.pdf

[83] *Diagnostická souprava pro rychlé stanovení požití nových syntetických drog DMT test na sliny* [online]. B.m.: DYNEX LABORATORIES, s.r.o. Dostupné z: https://www.dynex.cz/data/machines/navod_dmt_sliny_final_rev2.pdf

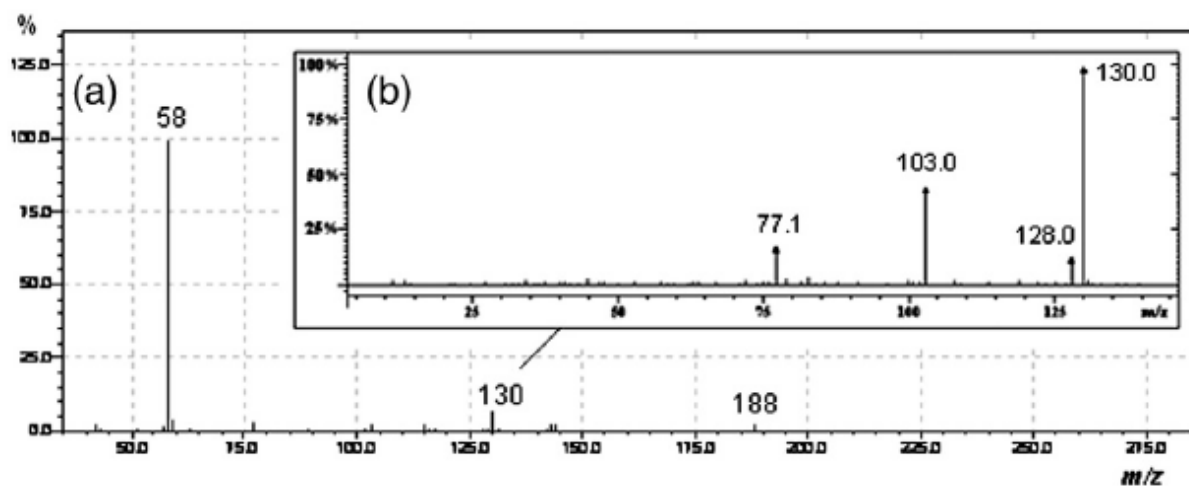
[84] *Terénní testy na nové syntetické drogy* [online]. B.m.: DYNEX LABORATORIES, s.r.o. Dostupné z: https://www.dynex.cz/data/machines/nsd_testy_10_2016.pdf

SEZNAM PŘÍLOH

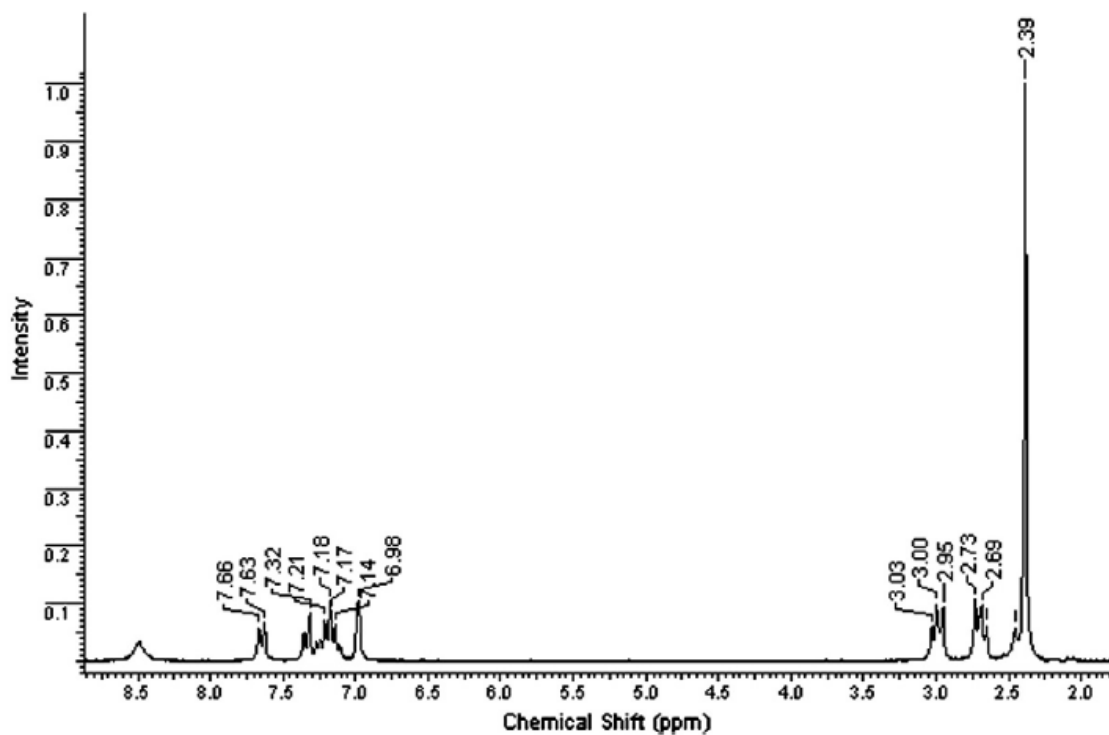
Příloha A: Vybraná spektra DMT

PŘÍLOHA A: Vybraná spektra DMT

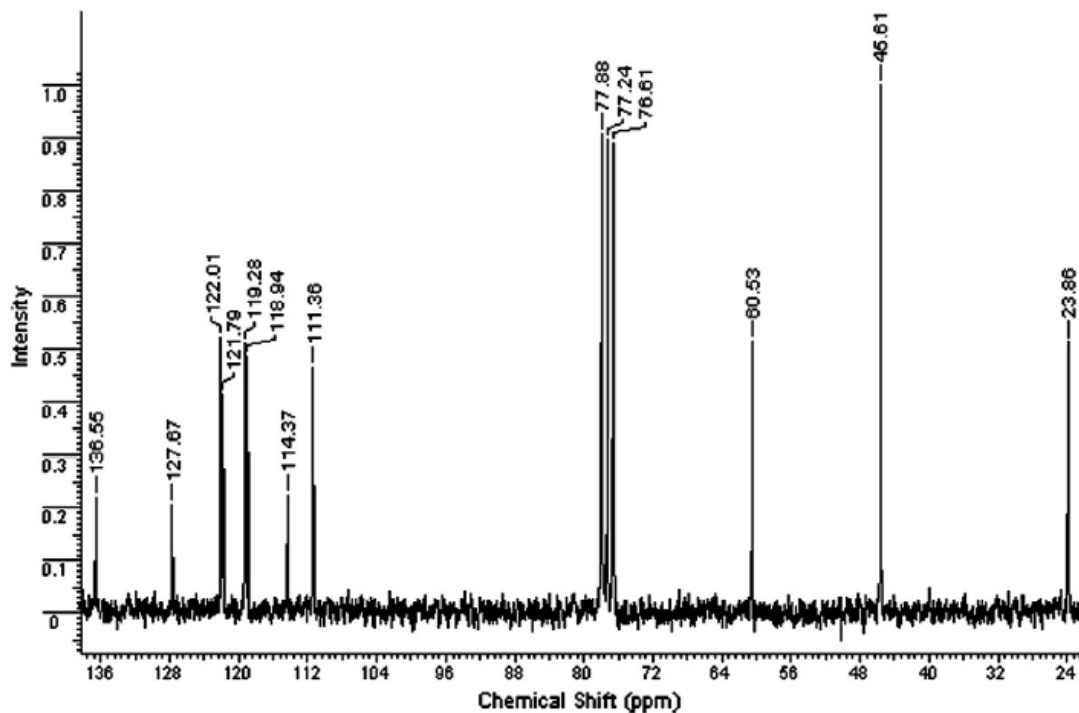
Vybraná spektra DMT (MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ a IR), převzato z [71].



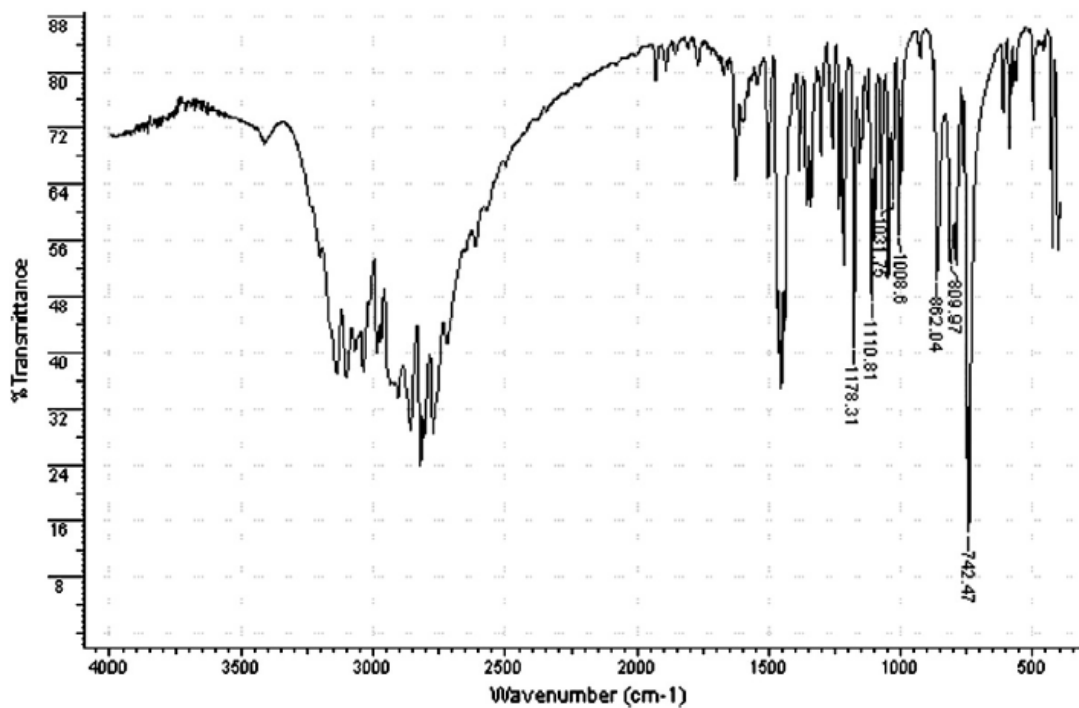
Obrázek 19 Hmotnostní spektrum DMT (GC-MS/MS, SRM mód) (a), bližší detail části spektra (b)



Obrázek 20 $^1\text{H-NMR}$ spektrum DMT



Obrázek 21 $^{13}\text{C-NMR}$ spektrum DMT



Obrázek 22 IR spektrum DMT (měřeno metodou FTIR)