

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Metody detekce vybraných návykových látek v biologickém materiálu  
Bakalářská práce

2024

Monika Vyskočilová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Monika Vyskočilová**  
Osobní číslo: **C21244**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Metody detekce vybraných návykových látek v biologickém materiálu**  
Téma práce anglicky: **Methods of Detection of Selected Addictive Substances in Biological Material**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši mapující problematiku návykových látek podle jejich účinku a rozšíření jejich užívání v populaci. Zaměřte se na přehled metod detekce návykových látek v biologickém materiálu. Vysvětlete principy analytických metod používaných pro tento účel v praxi nejčastěji.
2. Po vybrané návykové látce (minimálně tři) popište (i) jejich účinky na organismus a mechanismus jejich působení, (ii) rozsah používání v populaci, (iii) metody pro stanovení v biologickém materiálu (moč, krev, sliny, pot, vlasy)
3. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 "Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu" v platném znění.

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

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Anna Krejčová, Ph.D.**  
Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

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

L.S.

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

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Metody detekce vybraných návykových látek v biologickém materiálu 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

Monika Vyskočilová v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych ráda vyjádřila své poděkování vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Anně Krejčové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné rady a ochotu při konzultacích poskytnutých ke zpracování této práce. Zároveň bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za jejich podporu po celou dobu mého studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá drogami a vybranými metodami jejich detekce. Zaměřuje se stručně na historii drog, na rozdělení drog podle způsobu účinku na organismus, popisuje postupy detekce v moči, krvi, vlasech, potu a slinách. Pozornost je věnována detekci pomocí imunochemických, chromatografických metod a je zde zmíněna i nukleární magnetická rezonanční spektroskopie. Poslední část je cílena konkrétně na stanovení delta-9-hydrokanabinolu a využití analýz v praxi.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

drogy, analýza, detekce, biologické materiály

## **TITLE**

Methods of drug detection in biological materials

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis deals with drugs and selected methods of their detection. It focuses briefly on the history of drugs, on the distribution of drugs according to the effects on the organism, and describes detection procedures in urine, blood, hair, sweat and saliva. Attention is paid to detection using immunochemical, chromatographic methods, and nuclear magnetic resonance spectroscopy is also mentioned. The last part is aimed specifically at the determination of THC in the blood and the use of analyzes in practice.

## **KEYWORDS**

drugs, analysis, detection, biological materials

# OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK .....	8
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	9
ÚVOD .....	11
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	12
1.1 Historie drog .....	12
2 KLASIFIKACE DROG .....	13
2.1 Tlumivé látky .....	13
2.2 Stimulační látky .....	14
2.3 Halucinogenní látky .....	16
2.4 Konopné látky .....	19
2.5 Těkavé látky .....	21
2.6 Léky vyvolávající závislost .....	22
2.7 Alkohol .....	23
3 VYBRANÉ METODY STANOVENÍ DROG .....	24
3.1 Screeningové metody .....	24
3.2 Laboratorní stanovení .....	28
3.2.1 Příprava vzorku k analýze .....	29
3.2.2 Analytické metody .....	32
4 STANOVENÍ THC V REÁLNÝCH VZORCÍCH .....	37
ZÁVĚR .....	43
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	44

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 <i>Claviceps purpurea</i> na žitě [55].....	17
Obrázek 2 <i>Psilocybe cubensis</i> [56].....	17
Obrázek 3 <i>Lophophora williamsii</i> [57].....	18
Obrázek 4 <i>Cannabis sativa</i> [58].....	19
Obrázek 5 Základní schéma imunochromatografického testu [59].....	27
Obrázek 6 Schéma kompetitivního uspořádání imunochemického testu pro průkaz nízkomolekulárních látek – upraveno [59].....	28
Obrázek 7 Schéma plynového chromatografu GC-MS – upraveno [60].....	33
Obrázek 8 Zjednodušené schéma HLPC [61].....	34
Obrázek 9 Kompetitivní stanovení ELISA metody – upraveno [59].....	36
Tabulka 1 Souhrn požadavků na vzorek pro detekci [39,4].....	29



## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

BSTFA	N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid
CBC	kanabichromen
CBD	kanabidiol
CBG	kanabigerol
CBN	kanabinol
ČSÚ	Český statistický úřad
ČR	Česká republika
DMT	dimethyltryptamin
ECD	detektor elektronového záchytu
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
FID	plamenový ionizační detektor
GABA	kyselina gama-aminomáselná
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
HIV	virus lidské imunodeficiency
HLPC-UV	vysokoúčinná chromatografie s detektorem na ultrafialové záření
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií
LLE	extrakce z kapaliny do kapaliny
LSD	diethylamid kyseliny lysergové
NDMA	N-Nitrosodimethylamin
NMR	nukleární magnetická rezonanční spektroskopie
MS	hmotnostní spektrometrie
POCT	point of care testing

PFBHA	pentafluorobenzyhydroxyamin
SPE	extrakce na tuhé fázi
SPME	mikroextrakce na pevné fázi
TBAH	tetra-n-butylamoniumhydroxid
TCD	tepelně vodivostní detektor
TDMS	trimethylsilyldiazomethan
THC	delta-9-tetrahydrokanabinol
THC-COOH	kyselina 11-nor-delta-9-tetrahydrokanabinol-9-karboxylová
THC-OH	11-hydroxy-delta-9-tetrahydrokanabinol
THCV	tetrahydrokanabivarol
TLC	tenkovrstvá chromatografie
UV	ultrafialové záření

## ÚVOD

Detekce drog v tělních tkáních představuje klíčový aspekt v oblasti forenzní toxikologie, soudního lékařství a dopingových kontrol. V posledních letech se užívání drog stalo významným zdravotním a společenským problémem po celém světě. Drogy mohou být klasifikovány podle různých kritérií, včetně jejich účinků na lidské tělo a mysl, jako stimulantia, opioidy, kanabinoidy, sedativa, halucinogeny. S rostoucím počtem uživatelů, také roste i potřeba efektivních metod detekce a analýzy drog v biologických materiálech, kterými jsou tělní tkáně. Mezi standardní matrice patří krev, moč, sliny, přičemž v dnešní době mají velké uplatnění i vlasy. Vlasy totiž poskytují informace o užití drog v rádech několika měsíců.

Metody detekce drog v tělních tkáních zahrnují screeningové metody, které slouží pro rychlé kvalitativní testování. To znamená, že potvrdí, či vyvrátí, zda dotyčná osoba užila stanovenou látku. Těmito testy lze zachytit více užitých drog a velkou výhodou je snadná manipulace bez nutnosti předem upravovat testovaný vzorek. Po pozitivním výsledku ze screeningových testů následují analytické techniky sloužící k potvrzení přítomnosti a určení množství specifických drog a jejich metabolitů. Příprava vzorku je důležitým krokem analytického procesu, který zahrnuje izolaci a čištění analytů z biologických matric. Mezi analytické techniky patří zejména chromatografické metody, často v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Tyto metody vyžadují nákladné vybavení a vysokou odbornou znalost, avšak jsou schopny poskytovat spolehlivé výsledky.

Tato práce se zabývá klasifikací drog dle jejich účinků na lidské tělo, vybranými metodami jejich detekce v biologických matricích a využitím analýz drog v praxi.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Historie drog

Své počátky mají drogy již v dávné historii, kdy se lidé snažili najít látky, které by jim pomohly vyřešit různé problémy. Ať už se jednalo o látky zmírňující bolest, léčení chorob, nebo také určité substance navozující pocity štěstí a rozkoše či zapomnění. Mezi historicky nejstarší drogy patří látky psychedelické. Nejčastěji se využívaly jako léčebné prostředky a při komunikaci s podsvětím či nebem. Tím nejstarším svědectvím o užívání psychedelických látek jsou šamanské rituály v dobách paleolitu. Tyto substance obvykle navozují intenzivní požítky. První dokumenty o pěstování máku pro jeho narkotické účinky jsou staré přes 6000 let a pochází z říše Sumerů. V egyptských hieroglyfech byla archeology nalezena zmínka o šťávě z makovic, která byla využívána jako lék proti bolestem a jako prostředek na uklidnění. Tato látka hrála roli i při kulturních ceremoniích. Další rostlinou je konopí, které se používalo zejména k lékařským účelům a pochází pravděpodobně z centrální Asie, odkud se rozšířilo do Afriky a do Číny. Řeční lékaři využívali omamných účinků konopí k léčení. Zjistilo se, že umí tlumit bolesti, či navozovat spánek. V období středověku byly drogy spojovány především s čarodějnictvím. Čarodějnice je údajně používaly k přípravě mastí či lektvarů. S rozvojem farmaceutického průmyslu v 19. století došlo k masovému rozšiřování drog, zejména v Evropě a Severní Americe. V tomto období byly objeveny a izolovány významné aktivní látky jako např. morfin, kodein, atropin, kofein, kokain, heroin, meskalin, barbituráty. Došlo k postupnému pochopení mechanismu účinků látek, výrobě a distribuci léků po celém světě. Výrazným přelomem byl vynález injekční jehly v roce 1853, což umožnilo intravenózní užití a rychlejší nástup účinků. [1]

Ve 20. století byla nově syntetizována látka fentanyl, která se využívá jako analgetikum. V USA dochází k častému zneužívání této látky, míchá se s jinými drogami jako je např. xylazin, což je veterinární sedativum. Směs je často označovaná jako tranq, či zombie droga, protože se po jeho požití v místě vpichu tvoří hnisající rány, které zčernají a poté, co dotčená tkáň odumře, dochází k jejímu rozkladu. [2]

V roce 2022 se na evropském drogovém trhu objevily nové polosyntetické kanabinoidy, jako jsou hexahydrokanabiol, hexahydrokanabiforol a tetrahydrokanabidiol. Tyto látky jsou vyráběné z kanabidiolu extrahovaného z konopí s nízkým obsahem tetrahydrokanabiolu. [3]

## 2 KLASIFIKACE DROG

Existuje několik způsobů, jak klasifikovat drogy. Lze je rozdělit podle zákonnosti jejich užívání v dané zemi na legální a nelegální, či dle míry návykovosti na měkké a tvrdé. Návykové látky kategorizujeme podle původu na uměle vyrobené neboli syntetické a přírodní. Drogy můžeme dělit podle toho, jak ovlivňují tělo a mysl zdravého člověka na tlumivé, stimulantia a halucinogenní látky. [4]

### 2.1 Tlumivé látky

Tlumivé látky mají zklidňující, uvolňující účinky. Malé dávky zklidní, vyšší navodí spánek, kóma až zástavu životních funkcí. Tyto látky vyvolávají psychickou a obvykle také somatickou závislost. [4]

**Opiáty a opioidy** jsou skupinou látek nesoucí název dle sušené šťávy z nezralých makovic. V opiu jsou obsaženy alkaloidy morfinu a kodeinu, zodpovědné za protibolestivé a psychotropní účinky. Dále do této skupiny patří synteticky či polysynteticky připravené látky, jako je heroin, metadon, fentanyl nebo buprenorphin. Účinek opioidů je zprostředkován vazbou na specifické receptory pro endogenní opioidy. Typický efekt je spojen s  $\mu$ -receptorem, jeho aktivace způsobuje analgezi, euforii, sedaci, ale také útlum centrální nervové soustavy a vznik závislosti. Aktivace receptoru na buněčné úrovni inhibuje tvorbu cyklického adenosinmonofosfátu. Častá aplikace vede k toleranci a postupné obnově tvorby cyklického adenosinmonofosfátu, náhlé vysazení pak k prudkému vzestupu jeho koncentrace a rozvoji odvykacího stavu. [4]

**Heroin** je syntetická droga, která je derivátem morfinu a má dvě chemické modifikace. Jedná se o diacetylmorfin, který je základní formou heroínu, a jelikož je lipofilního charakteru, snadno prostupuje přes hematoencefalickou bariéru a urychluje nástup účinku. Je určen ke kouření nebo inhalaci z aluminiové folie. Pro jeho nitrožilní užití je potřeba přidat kyselinu citronovou nebo askorbovou, aby se lépe rozpouštěl ve vodě. Druhou formou je heroin hydrochlorid, který je rozpustný ve vodě a využívá se k injekční aplikaci či šňupání. Jelikož ve většině případů se využívá nitrožilní aplikace, je zde poměrně vysoké riziko vzniku HIV (virus lidské imunodeficiency), žloutenky a jiných onemocnění. Tato látka má schopnost potlačit funkci centrálního nervového systému a dechové centra. Rozdíl mezi dávkou, která vyvolává intoxikaci, a dávkou, která může vést ke smrti, je velmi malý, což činí heroin velice nebezpečným. Navíc na něj vzniká velice rychle tolerance a je nutné dávku navýšit. [4]

**Morfin** patří mezi alkaloidy opia a využívá se v lékařství jako velmi účinné analgetikum proti silným bolestem. Vyskytuje se na trhu ve formě bílého krystalického prášku. Nejčastěji je morfin aplikován injekčně do svalu, přímo do žíly, nebo je k dostání ve formě tablet. Působením morfinu na opioidní receptory dochází k útlumu centrální nervové soustavy a dechového centra. Vyvolává sedaci a euforii, která vede k závislosti. Rozvíjí se silná fyzická i somatická závislost. Velmi rychle na něj vzniká tolerance a je potřeba navýšit dávku pro dosažení stejného účinku. Mezi nežádoucí účinky patří deprese respiračního centra, nevolnost, zvracení, zácpa. Dochází k zúžení zornic, často také bez reakce na světlo. [5]

## 2.2 Stimulační látky

Stimulancia se vyznačují svými povzbuzujícími účinky na centrální i periferní nervovou soustavu. V závislosti na konkrétní látce lze pozorovat dočasné změny ve vnímání, náladě, vědomí a chování. Tyto látky mohou ovlivňovat kardiovaskulární systém a přispět ke zvýšení krevního tlaku a srdeční frekvence. Po jejich požití se obvykle dostavuje euforie spolu s ústupem únavy, dochází ke snížení potřeby spánku a k potlačení chuti k jídlu. Nižší dávky těchto léků jsou účinnou léčbou poruchy pozornosti s hyperaktivitou a narkolepsie. Mechanismus účinku spočívá ve zvýšení hladiny neurotransmiterů dopaminu, noradrenalinu, popř. i serotoninu na synapsích v centrální nervové soustavě. Působí jako inhibitor zpětného vychytávání těchto látek v mozku. Po odeznění účinků dochází k nedostatku neuromediátorů, což vede ke vzniku nepříjemného stavu, tzv. „dojezdu“. Během tohoto období uživatel může zažívat depresivní nálady a pociťovat silné vyčerpání. Na mnohé stimulační látky vzniká poměrně snadno psychická závislost k nutkavé potřebě opakovaného užívání. Na rozdíl od opiátů nevzniká somatická závislost. Vyšší dávky mohou vyvolat halucinace, nervozitu, úzkost, zmatenost a často i paranoidní myšlenky, které přecházejí až do stavu toxické psychózy. [6,7]

**Metamfetamin** neboli pervitin je syntetická droga, která patří do skupiny amfetaminů. Poprvé byl syntetizován v roce 1919 v Japonsku. Vlastní syntéze metamfetaminu předcházela izolace efedrinu z rostliny *Ephedra vulgaris*. V průběhu druhé světové války se hojně podával vojákům ke zvýšení koncentrace a výkonnosti. Existuje ve formě bílého krystalického prášku, hořké chuti, bez zápachu. Na ilegálním trhu se však většinou nevyskytuje v čisté formě, a tak bývá zabarven do žluta nebo do fialova, což je způsobeno přítomností zbytků látek používaných při domácí výrobě. Nejrozšířenějším způsobem užívání je nitrožilní aplikace, protože účinek nastupuje téměř okamžitě. Dalšími způsoby jsou šňupání, nebo kouření pomocí skleněné tyčinky, kdy se zespona zapalovačem nahřívá skleněná dutá tyčinka, látka uvnitř se taví

a uvolňující se páry jsou vdechovány do plic. Po požití látky dochází k pocitům euforie a zvýšené výkonnosti organismu, dostavuje se snížení únavy a potřeby spánku. [7,8]

**Kokain** patří mezi přírodní drogy, jedná se o alkaloid, který je vytěžen z rostliny koka (*Erythroxylum coca*), rostoucí jako keř převážně v Jižní Americe. Výchozí látkou pro syntézu je aminokyselina arginin. Vyskytuje se jako bílý krystalický prášek s hořkou chutí a bez zápachu, který po několika minutách požití způsobí znecitlivění jazyka. V medicíně byl používán pro odvykání ze závislosti na morfinu. Využití také našel jako lokální anestetikum v zubním a očním lékařství, protože zabraňuje šíření signálu bolesti tím, že blokuje sodíkové kanály v nervových vláknech, což brání jejich schopnosti přenášet signály bolesti do mozku, a to způsobí dočasnou necitlivost v oblasti aplikace. Tradičním způsobem aplikace kokainu je žvýkání kokových listů. Užívání je nejčastěji šňupáním nosními dírkami, avšak může být aplikován i nitrožilně, protože je dobře rozpustný ve vodě. Dalším způsobem aplikace je vtírání do sliznic – dásní, rekta, pochvy. Při prvním požití mohou nastat i negativní účinky jako pocit slabosti, závrať, pocení, třes rukou. Teprve opakované požití způsobuje euforii, pocit radosti, vzrušení, zvýšené sebevědomí, sebejistotu, zvyšuje bdělost a energii, snižuje pocit únavy, potřebu spánku a chuť k jídlu. Kokain je silné afrodisiakum, významně snižuje sexuální zábrany. Užívání kokainu představuje značnou zátěž pro kardiovaskulární systém, tato látka vyvolává zvýšení krevního tlaku a srdeční frekvence, může dojít k poruchám srdečního rytmu. [5,9]

**Crack** je krystalická substance, která je vyrobená z kokainu, a to smícháním s alkalickou látkou, obvykle s hydrogenuhličitánem sodným nebo amoniakem, následně zahřáta, a tím převedena na formu krystalů, které se pak kouří. Jeho název je inspirován charakteristickým zvukem, jenž je podobný praskání, které vydává při zahřívání. Účinky cracku jsou rychlejší a intenzivnější než u kokainu, protože tím, že se kouří, dochází ke vstřebání účinné látky do oběhu krve přes plicní membránu. Po užití dochází k extrémnímu a okamžitému přívalu euforie, která je následována intenzivní depresí, podrážděností a touhou po další dávce. [10]

**Extáze** patří do skupiny syntetických látek, jejíž užívání je rozšířeno zejména na diskotékách či klubech mezi mladými lidmi. Označuje se jako taneční droga. Často obsahuje příměsi jiných látek, jako jsou kofein, amfetaminy, kokain, ketamin, efedrin aj. Působí jako stimulant a zároveň jako halucinogen. Obvykle se ve vyskytuje ve formě tablet různé barvy či kapslí. Tato droga přináší příjemné pocity narůstající energie, euforie, dochází k odbourávání

komunikačních zábran a způsobuje nárůst empatie. Mezi nežádoucí účinky patří hypertermie a dehydratace organismu, může také dojít k život ohrožujícímu stavu – hyponatremie, při kterém je hladina sodíku velice nízká v důsledku doplňování velkého množství vody bez elektrolytů. [11,12, 13]

### 2.3 Halucinogenní látky

Halucinogeny patří mezi psychoaktivní látky, které vyvolávají změny ve vnímání času a prostoru, vědomí. Způsobují určité hmatové, sluchové, či zrakové halucinace, což jsou vjemy, které se zdají být skutečné, ačkoliv nejsou. Často je po užití látky popisován změněný smysl pro barvy, světlo, zvuky, tvary, chutě. Tyto stavy jsou doprovázeny euforií nebo naopak smutkem. Průběh stavu je ovlivněn tzv. „set a setting“, což znamená, že závisí na aktuálním duševním rozpoložení uživatele a místě, kde je droga užívána. Když má uživatel špatnou náladu, může dojít k nepříznivému průběhu intoxikace s příznaky deprese, úzkosti, paniky, paranoie, tento stav je nazýván jako bad trip. Halucinogenní látky tvoří velkou skupinu a mohou být přírodní či vyrobené synteticky. Mezi přírodní drogy se řadí psilocybin, meskalin, dimethyltryptamin, ayahuaska, atropin a skopolamin, ibogain, myristicin, kyselina ibotenová, bufotenin aj. K syntetickým drogám se poté zařazuje nejznámější halucinogen diethylamid kyseliny lysergové, fencyklin, ketamin. Přírodní látky bývaly často užívány šamany při očistných rituálech. Přestože lidé halucinogeny užívali rituálně po tisíce let, zájem o jejich klinické použití pro léčbu duševních poruch se začal objevovat až v 50. letech 20. století, kdy proběhla syntéza syntetické formy látky psilocybinu. V 60. a 70. letech vstoupily v platnost zákony omezující jejich použití a nastal zákaz výzkumu účinků halucinogenních látek. Psychedelické drogy by se mohly podílet na léčbě závislosti, úzkosti, depresivních poruch, posttraumatických stresových poruch a při psychoterapii umírajících. Halucinogeny způsobí halucinace narušením interakce mezi nervovými buňkami a neurotransmiterem serotoninem. Po použití halucinogenů může vzniknout jen slabá psychická závislost, somatická nevzniká. [5, 14, 15]

**LSD** neboli diethylamid kyseliny lysergové patří mezi nejznámější halucinogenní drogy. Jedná se o látku, která je polosynteticky vyrobena z kyseliny lysergové vyskytující se v námelu a je produkována plísní paličkovnicí nachovou (*Claviceps purpurea*) parazitující na žitě a ječmeni. Byla syntetizována roku 1938 švýcarským chemikem Albertem Hoffmannem. Nejčastěji se LSD vyskytuje ve formě tzv. tripů, což jsou malé papírové čtverečky s různými symboly napuštěné účinnou látkou. Užití drogy je perorální, kdy je rozpuštěna pod jazykem. Další formy distribuce jsou tablety, želatina, roztok, či krystaly. LSD



se využívá pro svou schopnost měnit náladu a vnímání. Nástup účinku může být provázen pocitem chvění, nevolnostmi, pocením, nebo neschopností ovládat pohyby. Paličkovnice nachová na žitě je znázorněna na obrázku 1. [4, 5]



Obrázek 1 *Claviceps purpurea* na žitě [55]

**Psilocybin** je psychicky velmi aktivní látkou, v přírodě se vyskytuje v mnoha druzích halucinogenních hub jako např. *Psilocybe cubensis*. Tato látka patří do skupiny tryptaminů působících agonisticky na serotoninové receptory. Mimo samotného psilocybinu se v houbách vyskytuje i jeho aktivní metabolit psilocin. Tyto houby se pěstují i vykytují volně v přírodě. Množství aktivní látky v houbě nelze přesně určit, což zvyšuje riziko možné intoxikace. Užívají se perorálně, a to pouze plodnice čerstvé nebo sušené. Lysohlávky lze označit jako příležitostnou doplňkovou drogu, jinak je její užití úzce vázáno na specifické kulturní skupiny. Historicky byl psilocybin používán při různých rituálech a ceremoniích mnoha původními kulturami, včetně indiánů v Mexiku a Střední Americe. V roce 1957 byl chemikem Albertem Hofmannem izolován psilocybin z houby *Psilocybe mexicana*. Účinky obou látek (psilocybinu a LSD) si jsou navzájem velice podobné. U lysohlávek bývají tělesné příznaky silnější, často spojené s mírným třesem, neklidem, doprovázeným zvýšeným tlakem krve a tepu. Houba *Psilocybe cubensis* je na znázorněna na obrázku 2. [5,16,17]



Obrázek 2 *Psilocybe cubensis* [56]

**Meskalin** je přírodní alkaloid, který se vyskytuje v kaktusech jako je např. peyotl (*Lophophora williamsii*). Domorodí obyvatelé Severní Ameriky poznali psychoaktivní vlastnosti peyotlu již před tisíci lety a používali ho při náboženských obřadech pro jeho halucinogenní účinky. Přírodní forma meskalinu se užívá perorálně, a to formou čaje, nebo se žvýká či kouří, syntetickou drogu lze užívat v tabletách nebo prášku. Kaktus *Lophophora williamsii* je znázorněn na obrázku 3. [20]



Obrázek 3 *Lophophora williamsii* [57]

**Ketamin** se používá v lékařství i veterinářství jako anestetikum a jako analgetikum pro zmírnění bolesti. Mimo lékařství se však ketamin užívá také jako rekreační droga pro jeho psychedelické účinky. Vyvolává změněné stavy vědomí, které zahrnují vizuální a zvukové halucinace, zvýšenou vnímavost, může dojít až ke stavu disociace, tj. pocit oddělení od vlastního těla a myšlení. Ketamin působí na centrální nervový systém jako antagonist. N-methyl-D-aspartát receptorů, které jsou důležité pro přenos glutamátu, hlavního excitatorního neurotransmiteru v mozku. Při vysokých dávkách se váže se také na opioidní receptory a sigma receptory. Ketamin začíná být zkoumán jako potenciální lék pro léčbu depresivních poruch. Studie ukazují, že má rychlý antidepresivní účinek, často již několik hodin po podání, což je mnohem rychlejší než u běžných antidepresiv. Rovněž bylo prokázáno, že ketamin účinně prodlužuje abstinenci u lidí závislých na alkoholu a opiátech. Jedná se o bílý krystalický prášek, který je rozpustný ve vodě. Nejčastěji se užívá šňupáním, jeho tekutá forma se pak aplikuje injekčně do žíly či svalu. Mezi negativní vedlejší účinky patří nevolnost, závratě, zvracení, dezorientace. [18, 19]

**Ayahuasca** je psychoaktivní nápoj používaný tradičními kmeny v Amazonii při náboženských a léčebných obřadech. Jako hlavní složka tohoto nápoje se používá liána z rostliny *Banisteriopsis caapi* obsahující inhibitory monoaminoxidázy a často se také přidávají listy z rostliny *Psychotria viridis* obsahující DMT (dimethyltryptamin). *B. caapi* obsahuje látky zvané  $\beta$ -karboliny, jako je harmin a harmalin, které inhibují enzym monoaminoxidázu. Tato inhibice umožňuje DMT, který se nachází v *P. viridis*, aby se stal

aktivním, když je užíván perorálně. DMT je psychedelická látka, která aktivuje serotoninové receptory v mozku a tato aktivace je zodpovědná za halucinogenní účinky. Mezi fyzické účinky často patří nevolnost, zvracení, pocení, zrychlený srdeční tep. Ayahuasca může způsobit změny ve vnímání času, prostoru a smyslových podnětech. Dochází ke změnám myšlení, k zesílení emočního prožívání a zpracování potlačených emocí nebo traumatických zážitků. Vyvolává hluboké duchovní zážitky, které mohou vést k lepšímu sebepoznání či seberealizace. Řada studií prokázala jistou účinnost ayahuascy při léčbě různých typů závislostí a také při léčbě duševních poruch, jako je deprese či úzkost. [26,27]

## 2.4 Konopné látky

Konopí je původem z Asie, odkud se díky své pěstitelské nenáročnosti rozšířilo prakticky po celém světě. Přírodní drogy vyráběné z konopí patří mezi látky s halucinogenním účinkem. Nejvýznamnějšími zástupci jsou konopí seté, konopí indické, konopí rumištní. Jedná se o jednoletou dvoudomou rostlinu, kdy samičí rostliny jsou z hlediska obsahu psychotropních látek významnější. Nejvyšší obsah psychotropních látek je v pryskyřici samičích květů. Rostlina je průmyslová surovina, semena slouží ke krmení ptactva. Technické konopí obsahuje jen minimální množství psychotropních látek. Účinné látky, obsažené v produktech konopí, byly identifikovány až v roce 1964, kdy se zjistilo, že mezi psychicky aktivní látky patří např. neaktivnější delta-9-trans-tetrahydrokanabinol (THC). Mezi další významné látky patří kanabidiol (CBD), kanabinol (CBN) a kanabichromen (CBC). Účinek je zprostředkovan vazbou na specifické receptory pro endogenní kanabinoidy, které způsobují euforii a uvolnění. Vnější přívod THC vytěsňuje endogenní látky z vazby na kanabinoidní receptory a při dlouhodobém užívání vede k útlumu jejich produkce. Psychická závislost vzniká jen velmi zřídka, somatická závislost nevzniká. Nejčastěji se konopí užívá ve formě marihuany, hašiše a také hašišového oleje. [4,5]



Obrázek 4 Cannabis sativa [58]

**Marihuana** představuje název pro sušené květenství a horní listy ze samičí rostliny konopí. Barva se liší dle zpracování od tmavě zelené až po černo-zelenou. Při kvalitním zpracování je látka v malých kouscích, lehce lepí a má velmi charakteristické aroma. Marihuana se obvykle kouří přes jointy, blunty, bongy, vaporizéry, či vodní dýmky nebo také přijímáním drogy *per os*, tedy přidáním do cukrovinek, či nápojů. Rostlina konopí setého je znázorněna na obrázku 4. [21,22]

Marihuana domácí produkce se dle oblasti svého původu pohybuje v mezích 2 – 8 % obsahu aktivních látek, zahraniční v rozmezí 6 – 14 %. Šlechtěné vysoce potentní odrůdy pěstované hydroponií a při umělém osvětlení se poté pohybuje někdy i 20 % účinných látek. Hlavní psychoaktivní složkou marihuany je již zmíněný delta-9-tetrahydrokanabinol (THC), který působí na mozek a způsobuje změny nálad, chování, vnímání a myšlení. Dostavuje se euforie, pocit uvolnění nebo útlumu, ale rovněž se mohou objevit úzkosti, strach a panika, tyto stavy jsou častější při užití vysoké dávky. Zostřují se smyslové vjemy, někdy mohou nastat i halucinace. Marihuana může dočasně ovlivnit paměť a kognitivní funkce, zhoršuje také jemné motorické pohyby a reakční časy. Typicky po užití bývá sucho v ústech, rudé oči, často se také objevuje bušení srdce, pocity na zvracení či závrať. Konopí má potenciál léčit různé zdravotní problémy a může poskytovat řadu léčebných účinků. Kontrolované klinické studie poskytly podstatné důkazy podporující jejich použití u různých klinických stavů, včetně nevolnosti a zvracení vyvolaných chemoterapií u rakoviny, ztráty chuti k jídlu, neuropatické a chronické bolesti, spasticity u roztroušené sklerózy. Kromě toho existují určité důkazy naznačující terapeutický potenciál léků na bázi konopí v jiných indikacích jako je např. Tourettův syndrom, Huntingtonova choroba, Parkinsonova choroba, demence. Významně pomáhá k zmírnění úzkosti, deprese, při léčbě posttraumatické stresové poruchy nebo také přispívá ke zlepšení spánku. [23,24]

**Hašiš** je droga, která se získává zpracováním zralých květů samičí konopné rostliny. Nejvhodnější pro zpracování jsou květy rostlin, které mají velké množství chlupů, na nichž je pryskyřice bohatá na THC. Hašiš se vyrábí tak, že se sušené květy a listy konopí třou, nebo tlačí přes jemné síto, čím se extrahuje pryskyřice. Poté se tato pryskyřice zpracuje do různých forem, často do pevných destiček, tmavě hnědé či černé barvy. Účinky hašiše jsou obdobné účinkům jiných konopných produktů, avšak obsah aktivních látek se pohybuje kolem 40 %. Nejčastějším způsobem užívání hašiše je kouření, a to často společně s tabákem. [5]

**Hašišový olej** je vyráběn extrakcí hašišu. Dle způsobu výroby má konopný olej barvu od jantarové po tmavě hnědou. Tyto oleje obsahují přibližně od 15 % do 50 % THC. Za pokojové teploty se jedná o lepkavou tužší hmotu, která po zahřátí zkapalní. Účinky se dostavují již po 1 - 2 kapkách a je přidáván do pokrmů, nebo nakapán na cigaretu. [25]

## 2.5 Těkavé látky

Jedná se o chemické látky, jejichž společnou vlastností je, že rozpouštějí tuky a lipidní látky a mají narkotický účinek. Většinou jde o kapaliny s relativně nízkým bodem varu, takže se snadno odpařují, a i za pokojové teploty vytváří dostatečně koncentrované páry, které při nadýchání vyvolají psychotropní účinek. Těkavé látky mohou vyvolat silnou potřebu opakovaného užívání a odvykací stavy při pokusu o jejich odstavení. Mezi typické zástupce patří toluen, trichloretylen, aceton, éter, chloroform, rajský plyn, dále složky některých lepidel, ředidel a rozpouštědel. Jednotlivé těkavé látky se od sebe liší chemickým složením, způsobem účinku a klinickým obrazem. Tato rozpouštědla působí hlavně tím, že ovlivňují určité neurotransmiterové systémy v mozku. Dochází ke snížení aktivity receptorů nazývaných N-Nitrosodimethylamin (NMDA), které obvykle přenášejí vzruchy, zároveň zesilují funkci receptoru pro kyselinu gama-aminomáselnou typu A a glycinových receptorů, které naopak tlumí aktivitu v mozku. Když jsou tyto látky užívány dlouhodobě, mozek se snaží přizpůsobit tím, že zvyšuje aktivitu NMDA receptorů a snižuje aktivitu receptorů kyseliny gama-aminomáselné typu A. To může vést ke změnám v tom, jak mozek pracuje. Těkavé látky jsou užívány častěji jako doplňková droga při nedostatku primární látky. Aplikační cestou je téměř výhradně inhalace nosem, prostřednictvím igelitového sáčku či přes napuštěný hadřík danou látkou. Vstřebání přes plicní sklípky je velmi rychlé a účinky nastupují téměř ihned. Tyto látky účinkují na centrální nervovou soustavu, intoxikace je podobná opilosti, dochází k euforické fázi s poruchami vnímání – živými, barevnými zrakovými sluchovými halucinacemi. Zneužívání těkavých látek může vést k závažným kognitivním poruchám. Dlouhodobí uživatelé vykazují poruchy krátkodobé paměti, pozornosti, zhoršuje se u nich smysl pro řešení problémů a tyto poruchy přetrvávají i po dlouhých obdobích abstinence. To se stává, protože rozpouštědla poškozují bílou hmotu mozku, zejména v oblastech zodpovědných za myšlení. Často také dochází k toxickému poškození jater, ledvin a poleptání dýchacích cest. [4, 5, 28]

**Toluen** (methylbenzen) je bezbarvá kapalina, která se získává z ropy, lehkého oleje nebo koksových plynů. Jedná se o důležité rozpouštědlo a ředidlo, zejména laků. Užívání organických rozpouštědel bývá vzhledem k jejich nízké ceně častější v sociálně slabších

komunitách. Kvůli jejich způsobu užití nelze přesně odhadnout dávku, snadno může dojít k předávkování a následné smrti. [29]

**Rajský plyn** (oxid dusný) je bezbarvý plyn, nasládlé chuti, který se používá v lékařství jako anestetikum i analgetikum k utlumení bolesti, převážně ve stomatologii a v porodnictví. Inhaluje se z tlakových lahviček pro výrobu šlehačky nebo z nafukovacích balonků. [30]

## 2.6 Léky vyvolávající závislost

Léky vyvolávající závislost mohou být velmi problematické, protože vedou k rozvoji fyzické i psychické závislosti a jejich zneužívání. Zneužívání léků je definováno jako užití léku získaného na předpis nebo bez něj, avšak mimo lékařské postupy nebo pokyny, užití za jiným účelem než terapeutickým, nebo když jsou léky užívány v dávkách vyšších, než je doporučeno. Lék může být dlouhodobě předepisován pro léčbu chronických stavů nebo příznaků, kterými jsou např. bolest či nespavost. Pacient užívá lék nepřetržitě, aniž by věděl, že se jedná o lék, na který může vzniknout závislost. Závislí na ilegálních návykových látkách vyhledávají často léky ke zvládnutí odvykacích stavů či na výrobu jiných látek. Nejčastěji zneužívanými skupinami léků jsou analgetika, sedativa a hypnotika, anxiolytika, barbituráty, benzodiazepiny, opiáty, psychostimulancia. Tyto látky mohou být zneužívány pro vyvolání euforické nálady, povzbuzení, potlačení bolesti, strachu či úzkosti, nebo kvůli navození spánku. [31]

**Barbituráty** jsou deriváty kyseliny barbiturové. Jedná se o skupinu látek, které vykazují sedativní a hypnotické účinky na centrální nervový systém. Tyto látky byly syntetizovány roku 1864 německým vědcem Adolfem von Baeyerem. Historicky se používaly k léčbě různých stavů, včetně nespavosti, úzkosti, epilepsie. Své využití stále mají při navození anestezie na operačním sále. Barbituráty fungují tak, že zvyšují aktivitu inhibičního neurotransmiteru kyseliny gama-aminomáselné v mozku, což vede k útlumu nervové aktivity a následnému uklidnění a usnutí. Jejich využití je v lékařství dnes již omezeno kvůli vysokému riziku závislosti a předávkování. Místo nich jsou preferovány benzodiazepiny, které poskytují podobné účinky, avšak s menším rizikem vedlejších účinků a závislosti. Na barbituráty lze velmi jednoduše vypěstovat fyzická i psychická závislost. V některých zemích v kombinaci s dalšími léky jsou používány k popravám pomocí injekce, nebo také k eutanáziím. Tyto látky bývají často využívány k sebevraždám. [32,33]

**Benzodiazepiny** jsou skupinou psychoaktivních léčiv, které mají široké spektrum využití v terapii. Nejčastěji jsou předepisovány k léčbě úzkostných poruch, nespavosti, epilepsie, svalových křečí abstinčních příznaků při odvykání na alkohol. Tyto léky vykazují

sedativní, anxiolytické, hypnotické, myorelaxační a antikonvulzivní účinek. Mezi nejznámější zástupce patří: diazepam, alprazolam, klonazepam, oxazepam a chlordiazepoxid, bromazepam, medazepam aj. [34]

## 2.7 Alkohol

Alkohol vzniká chemickým procesem kvašení ze sacharidů buď z jednoduchých cukrů obsažených v ovoci, nebo z polysacharidů získaných z obilných zrn nebo brambor. Látka je lidstvu známa již od středověku, byla často využívána při náboženských obřadech, k různým lékařským účelům a později také jako nápoj. Může být konzumován v různých formách, jako je pivo, víno, lihoviny nebo míchané nápoje. Jedná se o látku, která má sedativní účinky na centrální nervový systém. Psychotropní účinek je zprostředkován ovlivněním neurotransmiterů kyseliny gama-aminomáselné (GABA), glutamátu, dopaminu a serotoninu. Alkohol zvyšuje účinky neurotransmiteru GABA a potlačuje aktivitu glutamátu, což vede k relaxaci a klidu. Dále vyvolává na krátkou dobu nárůst serotoninu a stimuluje uvolnění dopaminu, to může vyvolat pocit euforie a zvýšeného potěšení při konzumaci alkoholu. [35]

Účinek závisí na dávce a dalších faktorech, jako je množství, tolerance, pohlaví, koncentrace, tělesná hmotnost, psychický stav jedince. Malé množství působí stimulačně, vyšší tlumivě. Na počátku se dostavuje zlepšení nálady, ke zvýšenému sebevědomí a energii, později dochází ke ztrátě zábran a kritičnosti. Postupně se dostavuje únava, útlum a spánek. Mezi krátkodobé nežádoucí účinky patří porucha rovnováhy, zpomalení reakčního času, nevolnost, zvracení. Alkohol při nadměrné a dlouhodobé konzumaci vede k mnoha zdravotním obtížím, často dochází k poškození jater, včetně cirhózy či alkoholické hepatitidě. Může dojít k poškození pankreatu a ke vzniku diabetu. Chronické poškození jater může vést k rozvoji nádorového bujení – karcinomu jater, jícnu, žaludku, tenkého střeva a rekta. Objevují se i gastrointestinální, duševní problémy, neurologické poruchy. Alkohol obsahuje vysoké množství kalorií, často se jim říká prázdné, protože poskytují energii, avšak žádné živiny, což přispívá k nadváze. Energetická hodnota je 7 kalorií (29,4 kJ) na gram čistého alkoholu. Česká republika dlouhodobě patří k zemím s nejvyšší spotřebou alkoholu na světě. [4]

*„Podle ČSÚ bylo v ČR v r. 2022 spotřebováno celkem 169,5 l alkoholických nápojů v přepočtu na jednoho obyvatele ČR. V přepočtu to bylo 9,7 l čistého lihu, z toho nejvíce v pivu (4,7 l), dále v lihovinách (2,7 l) a vínu (2,3 l).“ [36]*

### 3 VYBRANÉ METODY STANOVENÍ DROG

Průkaz látky či jejích metabolitů se provádí širokým spektrem analytických metod v různých biologických vzorcích. Tyto metody lze rozdělit na screeningová vyšetření, která jsou založena na imunochemickém principu a mají orientační výpovědní hodnotu. Pro potvrzení stanovení se využívá metod separačních v kombinaci s detekční koncovkou. Jako pokročilé instrumentace se používají tzv. tandemové techniky, které jsou spojením separačních a dvou či více detekčních metod. [4]

#### 3.1 Screeningové metody

POCT (Point-of care testing) je technika testování, která umožňuje diagnostikovat pacienty v blízkosti místa péče, kterými jsou nemocnice či lékařské ordinace, domácí prostředí. Patří sem i testy prováděné v terénu např. zkoušky na přítomnost drog u řidičů. Tento typ testování poskytuje rychlý a poměrně přesný výsledek, který může pomoci k zavedení vhodné léčby. Zatímco samotná příprava vzorku k POCT obvykle není složitá, jeho správný odběr a následná manipulace s ním jsou klíčové a vyžadují pečlivost, aby byly zajištěny spolehlivé výsledky. Vhodným biologickým materiálem pro screeningové testy jsou kapalné vzorky (sliny, pot, moč, kapilární krev). Na screening drog se často používají testy, kterými lze stanovit více analytů současně, tzv. multiplexní testy. Mezi běžné příklady diagnostických testů se řadí stanovení glukózy, kardiomarkerů, C-reaktivního proteinu, krevní plyny, testování drog a alkoholu. V současné době se vyskytuje široká škála POCT zařízení, ať už se jedná o diagnostické proužky či imunochromatografické kazety, nebo případně analyzátoři. Metody v POCT jsou založeny na různých principech včetně imunologických. Imunologické metody na detekci drog využívají interakce mezi antigeny, tj. drogami nebo jejich metabolity a specifickými protilátkami, které jsou vytvářeny jako odpověď na přítomnost těchto látek ve stanovovaném materiálu. Monitorování imunoanalýzou se využívá jako počáteční kvalitativní test k určení přítomnosti či nepřítomnosti látek ve vzorku na základě prahu detekce. Tento typ testu nerozlišuje drogy v rámci třídy. I přes vysokou senzitivitu mají imunologické metody nižší specifickou z důvodu možné zkřížené reaktivity. To znamená, že některé molekuly obsažené v biologickém vzorku mohou interagovat s testovacími reagenty, což může vést k falešně pozitivním výsledkům. Tyto interakce bývají způsobeny strukturální podobou s cílovou látkou nebo metabolitem. Nebo může dojít k falešně negativnímu výsledku, který nastane, když imunoanalýza nedokáže detekovat drogu nebo metabolit drogy, z důvodu toho, detekovaná látka se liší strukturou od sloučeniny v dané skupině. Běžným příkladem je, že mnoho opiátových screeningových testů špatně detekuje oxykodon a jeho metabolity, i když



je oxykodon semisyntetickým derivátem opiových složek, jako je morfium nebo kodein. Existuje také mnoho příkladů falešně pozitivních výsledků, včetně metabolitu labetalolu (antihypertenziva) zkříženě reagujícího s amfetaminovými imunotesty. [62,63]

POCT se široce používají při testování drog na silnicích a na pracovištích k identifikaci nedávného užití konopí měřením přítomnosti THC ve slinách. Ve studii **Shin a kol.** [72] dostali respondenti s poruchou spánku (n=20) před spaním jednu (2 ml) perorální dávku oleje obsahující 10 mg THC a 200 mg kanabidiolu. Účastníci byli testováni na zařízeních POCT Securetec DrugWipe® 5S (mezí hodnota 10 ng/ml THC) a DrugTest® 5000 (mezí hodnota 25 ng/ml THC). POCT bylo provedeno 0,5, 10, 18 hodin po aplikaci. Vzorek slin byl také v každém časovém bodě analyzován pomocí LC-MS. Velká individuální variabilita koncentrací THC ve slinách byla pozorována po 0,5 h po aplikaci (rozmezí 0 – 425 ng/ml). Oba testy prokázaly špatnou citlivost na THC 0,5 h po aplikaci. 10 a 18 hodin po aplikaci byly koncentrace THC ve slinách všech účastníků pod hranicí screeningu a všechny výsledky testů byly negativní. Tato zjištění zdůrazňují relativně nízkou citlivost obou zařízení při zjišťování nedávného užití perorálního léčivého konopného produktu.

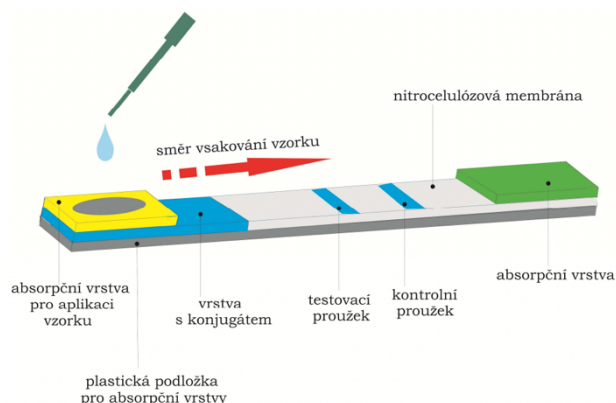
**Arkell a spol.** [78] prováděli POCT testování na THC ve slinách, které se stále častěji používají k detekci řízení pod vlivem konopí. Této studii se zúčastnilo 14 respondentů, kterými byli muži ve věku 21 – 38 let. Sliny byly odebrány v různém čase (10, 60, 120, 180 min) po inhalaci 125 mg THC-dominantního (obsahující 11 % THC a méně než <1 % CBD), ekvivalentu THC/CBD (obsahující 11 % THC a 11 % CBD) nebo placebo (obsahující méně než 1 % THC a méně než 1 % CBD) prostřednictvím vaporizace při 200 °C, což vedlo k předpokládaným dávkám přibližně 13,75 mg THC a CBD. Konzumace jídla a pití byla zakázána po dobu 10 minut před odběrem. Koncentrace kanabinoidů byly stanoveny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). K odpařování došlo během 5 minut podle standardizovaného postupu (nádech 3 sekundy, výdrž 3 sekundy, výdech a odpočinek 30 sekund). Vzorky slin byly odebrány pomocí sběrných zařízení Quantisal™. Zařízení byla umístěna pod jazyk, dokud indikátory nezmodraly (shromáždily 1,0 ± 0,1 ml perorální tekutiny), nebo maximálně na 10 minut, a poté byly umístěny do stabilizačního pufru. Vzorky byly uchovávány při 4 °C až do analýzy, která proběhla během měsíce od odběru. Testy na přítomnost drog byly také provedeny pomocí zařízení Securetec DrugWipe® 5 (DW5) a Dräger DrugTest® 5000 (DT5000). Obě zařízení měla výrobcem stanovený limit detekce 10 ng/ml THC. Celkem 165 z 168 testů DW5 a 163 z 168 testů DT5000 bylo považováno za platné

a následně byly výsledky porovnány s LC–MS kvantifikovaným konfirmačním stanovením THC.

Celkem bylo porovnáno 165 výsledků testů DW5 zahrnujících čtyři různé časy odběru s výsledky stanovení THC v ústní tekutině pomocí LC–MS. S aplikovanou konfirmační mezní hodnotou 10 ng/ml byla celková senzitivita, specifická a přesnost vypočtena jako 45 %, 92 % a 79 %. Z 30 výsledků testů, které byly pozitivní, bylo detekováno 9 falešně pozitivních s odpovídajícími koncentracemi THC v orální tekutině v rozmezí od 1,0 do 6,3 ng/ml. Ze 135 výsledků testů, které byly negativní, bylo detekováno 26 falešně negativních s odpovídajícími koncentracemi THC v orální tekutině v rozmezí od 10,1 do 1740 ng/ml. Výskyt falešně pozitivních i falešně negativních výsledků byl největší v čase odběru 60 minut. Bylo pozorováno méně falešně pozitivních a více falešně negativních výsledků s potvrzujícími hraničními hodnotami 2 ng/ml a 1 ng/ml. Celková přesnost byla největší s aplikovanou konfirmační mezní hodnotou 10 ng/ml.

Obdobným způsobem bylo vyhodnoceno 163 výsledků testu DT5000 zahrnujících čtyři časy odběru. Při konfirmačním limitu 10 ng/ml byla celková senzitivita, specifická a přesnost vypočtena jako 67 %, 86 % a 80 %. Ze 47 výsledků testů, které byly pozitivní, bylo detekováno 17 falešně pozitivních s odpovídajícími koncentracemi THC v orální tekutině v rozmezí od 0 do 6,4 ng/ml. Ze 116 výsledků testů, které byly negativní, bylo detekováno 15 falešně negativních s odpovídajícími koncentracemi THC v orální tekutině v rozmezí od 10,1 do 203 ng/ml. Stejně jako u DW5 byl výskyt falešně pozitivních a falešně negativních výsledků nejvyšší v čase odběru 60 minut. Použití potvrzujícího limitu 2 ng/ml nebo 1 ng/ml snížilo počet falešně pozitivních výsledků, ale podstatně zvýšilo počet falešně negativních výsledků. Celková přesnost byla nejvyšší s potvrzujícím limitem 10 ng/ml. Analýza LC–MS ukázala maximální koncentrace THC v orální tekutině v čase 10 minut s následným rychlým poklesem pro THC dominantní a THC/CBD ekvivalentní konopí. Přesnost byla nejnižší po 60 minutách, kdy se koncentrace THC často blížily hranici screeningu (10 ng/ml). Zařízení POCT mohou být užitečnými nástroji při zjišťování nedávného užívání konopí; je však třeba vzít v úvahu omezení a důrazně se doporučuje konfirmační LC–MS/MS kvantifikace výsledků.

**Imunochromatografické testy** se řadí mezi nejčastěji používané metody detekce, protože jsou cenově dostupné, jednoduché, rychlé na použití a poskytují výsledek během krátké doby. Jejich hlavní výhodou, že se mohou používat v terénu mimo laboratoř. V medicíně mají široké využití a slouží například k detekci léčiv, virových infekcí, či těhotenství. Proužky pro imunoanalýzu s laterálním průtokem, které využívají metodu kompetitivního stanovení, se skládají z několika komponent uspořádaných na plastovém podkladu. Základní schéma imunochemického testu je znázorněno na obrázku 5. [40]

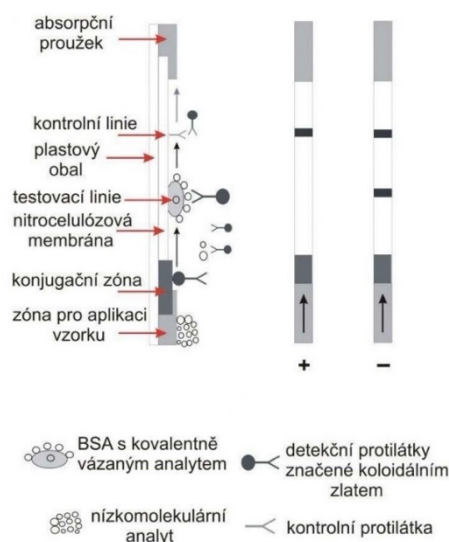


*Obrázek 5 Základní schéma imunochromatografického testu [59]*

Na začátku proužku se nachází oblast určená pro aplikaci vzorku, která slouží k nanesení kapalného vzorku. Dalšími důležitými částmi jsou oblast pro konjugát, membrána a adsorpční podložka. Membrána hraje klíčovou roli, protože na ní jsou umístěny kontrolní a testovací linie. Tyto linie obsahují molekuly antigenů nebo specifické protilátky, které jsou fixovány na membráně a reagují s analytem ve vzorku. Na konci je adsorpční podložka, která pomáhá urychlit tok analytu membránou a zabraňuje zpětnému toku vzorku. [40, 41]

Nízkomolekulární látky, jako jsou právě drogy, které mají pouze jedno vazebné místo pro protilátku, mohou být detegovány pouze v kompetitivním formátu. Schéma kompetitivního uspořádání imunochemického testu je ilustrováno na obrázku 6. V tomto formátu cílový analyt blokuje vazebná místa protilátky a pozitivní výsledek je indikován nepřítomností signálu na testovací linii, objeví se pouze signál v kontrolní zóně. V případě negativního výsledku se objeví dvě barevné linie, v kontrolní i testovací zóně. Některé látky interferují s testováním drog (např. mák interferuje s testováním opioidů). V těchto případech může být vyžadován konfirmační test nebo test metabolitů prostřednictvím hmotnostní spektrometrie nebo imunotestů k ověření správnosti identifikace látky v pacientově systému. Interference závisí na použitém imunotestu. Příbalový leták reagenční soupravy pro imunoanalýzu obsahuje seznam zkříženě reagujících léků. Mezi běžné interference u detekce konopí je ibuprofen,

naproxen, efavirenz, pantoprazol, na druhou stranu imunotesty nemusí detekovat příbuzné látky, kterými jsou syntetické kanabinoidy. Pokud jsou výsledky screeningového testu zpochybněny, měl by být test potvrzen pomocí další laboratorní metody, jako jsou plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS), nebo kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií. [42, 45]



Obrázek 6 Schéma kompetitivního uspořádání imunochemického testu pro průkaz nízkomolekulárních látek – upraveno [59]

### 3.2 Laboratorní stanovení

Detekce drog může probíhat v různých typech vzorků, z nichž každý má své specifické výhody a nevýhody. Mezi běžně využívané vzorky patří moč, krev, sliny, pot a přibývá využití detekce drog z vlasů. Výběr konkrétního typu matrice závisí na požadavcích, kterými jsou okna detekce, množství a obtížnost sběru vzorku. Níže uvedená tabulka 1 zmiňuje požadavky analýz. [40]

Detekce drog v moči je jednou z nejčastěji používaných metod. Stanovení drog v moči je preferováno před stanovením v krvi vzhledem k vyšší koncentraci a delšímu poločasu vylučování návykové látky. Moč se testuje na přítomnost drog a metabolitů, které tělo vytváří při jejich metabolizaci. Doba, po kterou je možné drogu detekovat v moči, se může lišit v závislosti na typu látky, dávce, rychlosti metabolizaci, a na tom, zda byla užívána jednorázově nebo pravidelně. Chronické užívání takových drog, jako je marihuana, fencyklidin, benzodiazepiny, může být zjištěné po dobu až 30 dnů, zatímco alkohol zůstává v systému 24 hodin nebo méně. [38,39]

Testování krevních vzorků na přítomnost drog se považuje za nejpřesnější, avšak jedná se o invazivní způsob odběru vzorku. Toto testování se provádí pouze v nouzových situacích,

neboť vyžaduje speciálně vyškolený personál pro odběr žilní krve venepunkcí v loketní žíle. Lokalizace žilního vstupu mezi injekčními uživateli drog může být velmi obtížná. Na rozdíl od vzorků moči vzorky krve obecně detekují spíše alkohol a sloučeniny drog než jejich metabolity. Tato metoda může být užitečná při akutních situacích, kdy je potřeba rychle zjistit přítomnost látky v organismu. [40,52]

Testy na drogy z vlasů mají výhodu v tom, že odhalují užívání látek dlouho i po jejich užití, a to v řádech dnů, měsíců, v některých případech i let. Metabolity léků se mohou ve vlasech objevit již týden po jejich posledním užití. Tyto metabolity zůstávají zachyceny v jádře vlasového vlákna a s růstem vlasů poskytují hrubý časový přehled o užívání drogy. [40]

Jednou z výhod testování slin je rychlá a neinvazivní dostupnost vzorků. Krátké časové okno pro detekci látek však omezuje účinnost této metody na zjištění pouze nedávného užívání drog. [39]

Pot je alternativní biologická matrice užitečná k detekci užívání drog. Je produkován endokrinními a apokrinními žlázami procházející z kožní dermis a končícími sekrečními kanálky, který proudí do kůže a vlasových folikulů. [53]

*Tabulka 1 Souhrn požadavků na vzorek pro detekci [39,4]*

Druh vzorku	Detekční okno	Množství vzorku
Moč	2 - 4 dny	50 ml
Sliny	12 - 24 hodin	1 ml
Krev	12 - 24 hodin	10 ml
Pot	1 - 4 týdny	<1 ml
Vlasy	4 - 6 měsíců	100 mg

### 3.2.1 Příprava vzorku k analýze

Před samotným laboratorním stanovením je nutné upravit vzorek, aby se mohl použít pro danou konfirmační analýzu. Průběh úpravy se mírně liší podle typu vzorku a také podle použité analytické techniky. Je tedy nutné ze vzorku získat sledovanou látku a to postupem, který je nedestruktivní, aby nedošlo ke ztrátě cíleného analytu. Přípravy jsou většinou na principu extrakce analytů. [64]

**Dekontaminace** vzorku vlasů se skládá z jednoho nebo více mycích kroků, jejichž účelem je odstranit různé kontaminanty z prostředí, které by mohly vytvářet interference na analytické úrovni, a vyloučit jakoukoli vnější kontaminaci sledovanými analyty. Na analytické úrovni mohou zbytky kosmetických přípravků, potu, kožního mazu a prachu

usazených na vlasech způsobit narušení detekce. Pro dekontaminaci se používají roztoky tenzidů např. SDS (dodecylsulfát sodný), Triton X-100, Tween 20 nebo organická rozpouštědla. Mezi běžně používaná dekontaminační činidla patří destilovaná voda, methanol, ethanol, aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová. Dále následuje již zmíněná extrakce. [65]

**Extrakce** slouží k izolaci cílových látek a eliminaci těch nežádoucích, které by mohly ovlivnit následnou analýzu. Jako tradiční metoda technika přípravy vzorku pro analýzu biologických vzorků se široce používá extrakce kapalina-kapalina (LLE). Princip zahrnuje přenos analytu z vodné matrice do extrakčního rozpouštědla, což vede k oddělení směsi do dvou fází. Extrakční rozpouštědlo použité pro LLE by mělo být nemísitelné s vodou. Mezi běžně používaná organická rozpouštědla patří dichlormethan, chloroform, n-butylchlorid, toluen, hexan, ethylacetát. Cílem je získat dobrý výtěžek bez chemické degradace analytů a jejich metabolitů. Další technika, která se využívá, je extrakce pevnou fází (SPE). Princip je založen na rovnovážné distribuci analytu mezi vodnou a tuhou fází. Celý postup SPE zahrnuje čtyři kroky: kondicionování SPE kolony, dávkování vzorku, promývání, eluce. Kondicionování kolony se provádí, aby se aktivoval sorbent, poté se aplikuje vzorek. Analytické látky se adsorbují na sorbent, zatímco nečistoty procházejí kolonou. Následně jsou analyty extrahovány vhodným rozpouštědlem. Díky své jednoduchosti a hospodárnosti z hlediska času a rozpouštědel se SPE používají pro předkoncentrování analytu a odstraňování nečistot běžně a častěji než LLE. Kromě toho je LLE neefektivní při extrakci polárních sloučenin, je časově náročná, má často tendence tvořit emulze a vyžaduje velké množství rozpouštědel. V rámci zmenšování procesu přípravy vzorku byla metoda SPE dále miniaturizována jako mikroextrakce na pevné fázi (SPME). Tato technika využívá vlákna potažená sorbentem k adsorpci analyzovaných látek z kapalně nebo plynné fáze. Vlákno je poté vloženo přímo do chromatografického systému pro analýzu. [66,67]

**Derivatizace** je proces, který následuje v určitých případech po extrakci, při kterém se modifikuje chemická struktura analytů pomocí reaktivních činidel, aby se zlepšila jejich detekce, separace nebo stabilita v rámci analytického procesu. Derivatizace pro GC-MS typicky zahrnuje silylaci, alkylaci nebo acylační reakce. Mezi běžná derivatizační činidla patří např. TDMS (trimethylsilyldiazomethan), PFBHA (pentafluorobenzylhydroxyamin), TBAH (tetra-n-butylamoniumhydroxid), nebo BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid). [66]

### **Příprava vzorku moči**

Vzorky moči se často ředí vodou nebo puftrem na vhodné pH. V některých případech se provádí krok hydrolýzy za použití silných kyselin, zásad nebo enzymů, aby se konjugáty převedly na snadněji extrahovatelné sloučeniny. Použití silných kyselin nebo zásad může vést k degradaci analytu, a to je důvod, proč je upřednostňováno použití enzymů, jako je beta-glukuronidáza. Tento druhý postup však trvá dlouho a v některých případech se pro úsporu času používá mikrovlnné záření nebo ultrazvuk. Proto je nutný krok, kde se provádí extrakce analytu z biologické matrice. K tomuto účelu se nejčastěji používají postupy extrakce kapalina-kapalina nebo extrakce na pevné fázi. Připravený vzorek moči je analyzován pomocí různých metod, jako jsou imunologické techniky a také se používají analytické metody GC-MS, LC-MS. [38,39]

### **Příprava vzorku krve**

Cílem preanalytické fáze je zakoncertování cílových analytů a odstranění potenciálních endogenních interferujících látek z matrice krve, kterými jsou hlavně fosfolipidy a proteiny. Mezi nejčastější postupy přípravy vzorků krve patří srážení proteinů, centrifugace, filtrace, extrakce kapalina–kapalina a extrakce na pevné fázi. [40,52]

### **Příprava vzorku vlasů**

Vzorek vlasů se obvykle stříhá ze zadní části hlavy nůžkami, co nejbližší ke kůži, aby se získaly informace o nedávném užívání drog. U pacientů, kteří jsou plešatí nebo mají oholenou hlavu, lze odebrat chlupy z podpaží, z obličeje nebo z jiných neoholených částí těla, pokud je vzorek dostatečně dlouhý. Koncentrace léčiva může být ovlivněna obsahem melaninu ve vlasech, což má za následek potenciálně vyšší koncentrace některých léčiv v tmavých vlasech v porovnání s blond či zrzavými. Odbarvení či barvení vlasů může také ovlivnit koncentrace metabolitů. Příprava vzorku pro testování je nákladná a časově náročná, skládá se z dekontaminace, následuje extrakce, která je při určitých analýzách doplněná ještě derivatizací. Sledování drog ve vlasech není příliš rozšířené. Analýza vlasů je nyní široce využívána jako důkaz u soudů po celém světě. Primární maticí, která se používá pro monitorování zneužívání drog pro forenzní aplikace a prevenci, je většinou moč. Sliny, moč, krev jsou náchylné ke kontaminaci a mají kratší okno detekce, zatímco analýza vlasů má širší okno detekce. Analýza vlasů se využívá se jako doplňkový test pro analýzu moči, krve a slin, protože THC trvá asi 2 týdny, než se dostane k vlasovému stvolu. Vzorky vlasů byly nejprve dekontaminovány a následně rozmělněny. Poté následovaly extrakční metody –

extrakce kapalina-kapalina nebo extrakce na pevné fázi, a nakonec byl vzorek koncentrován a kvantifikován analytickými technikami. [69, 40]

### **Příprava vzorku slin**

K odběru orálního vzorku se tampon umístí vedle spodní dásně proti vnitřní tváři a nechá se na místě několik minut, než se vloží do lahvičky pro přepravu do laboratoře. Vzorky slin není potřeba složitě upravovat, většinou se provádí centrifugace, která slouží k odstranění pevných částic nebo nečistot ze vzorku a následuje extrakce látek z kapalné fáze vzorku. Cílem extrakce je převést cílové látky z kapalné fáze slin do extrakčního média nebo rozpouštědla, které je pak možné analyzovat vhodnou analytickou metodou. [39]

### **Příprava vzorku potu**

Na odběr potu pro testování drog se používá speciální náplast, která obsahuje absorpční polštářek a tenkou membránu, která umožňuje výměnu plynů. Tato náplast se aplikuje na očištěnou kůži tam, kde je nevyšší koncentrace potních žlázek, a lze ji nosit až týden pro monitoring užívání nelegálních drog po delší časová okna, než jaká poskytuje testování moči. Během této doby se pot, který obsahuje potenciální látky, nasaje do absorbentu v náplasti. Detekce drog z potu se často používá v léčebných zařízeních k monitorování drogově závislých pacientů. Mezi detekovatelné látky z potu patří amfetaminy, opiáty, kanabinoidy, metadon, kokain. [53]

## **3.2.2 Analytické metody**

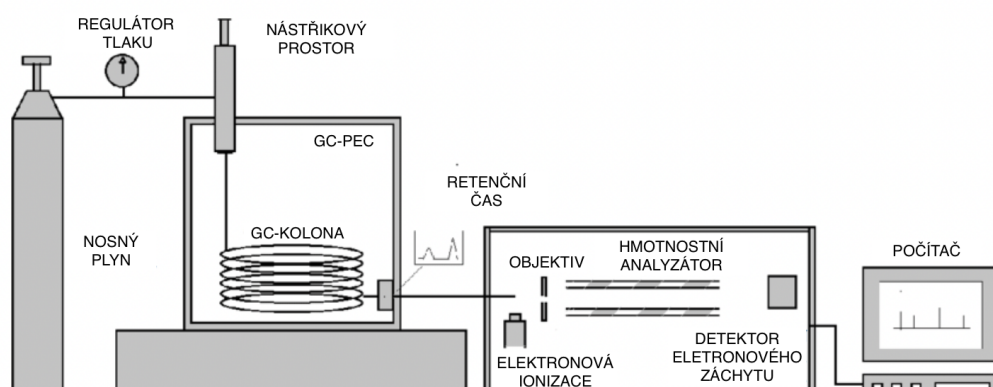
Analytické metody hrají klíčovou roli při detekci, identifikaci a kvalitaci drog v různých biologických materiálech. Tyto metody zahrnují techniky separační jako např. chromatografie a metody detekční např. spektroskopie, imunoanalýzy. [4]

**Tenkovrstvá chromatografie (TLC)** je analytická metoda používaná k oddělování a identifikaci látek ve směsích. Jedná se o plošnou chromatografii s převládajícím adsorpčním mechanismem dělení látek. Základní princip spočívá v tom, že vzorek je aplikován na tenkou vrstvu adsorbentu (stacionární fáze), kterým může být např. křemičitý gel na pevném podkladu, jako je sklo nebo hliníková destička. Poté je destička vystavena mobilní fázi, která se nachází v chromatografické vaně. Během procesu migrují složky adsorbentem různou rychlostí a oddělují se složky vzorku na základě jejich interakcí s adsorbentem a mobilní fází. Složky s větší afinitou ke stacionární fázi se pohybují pomaleji, zatímco složky s menší afinitou se pohybují rychleji a jsou unášeny mobilní fází dále po desce. Detekce rozdělených složek může probíhat zviditelněním pomocí UV záření, nebo pomocí různých detekčních metod.



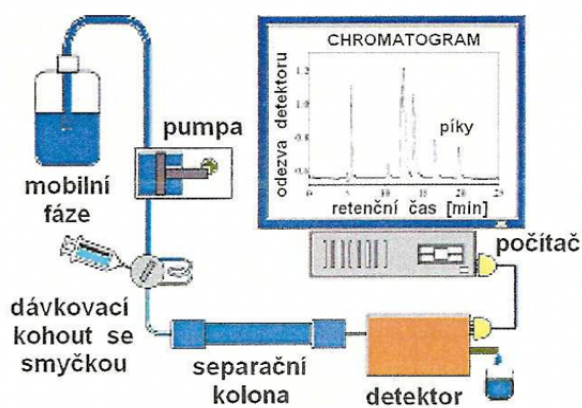
Identifikace jednotlivých složek se provádí porovnáním s referenčními hodnotami nebo výpočtem Rf hodnoty (retence faktoru), což je poměr vzdálenosti, kterou složka migruje, k vzdálenosti, kterou migruje mobilní fáze. [49]

**Plynová chromatografie** je separační technika, při které se složky vzorku rozdělují mezi stacionární a mobilní fázi. Mobilní fázi tvoří nosný plyn, obvykle se jedná o inertní plyn, jako je helium, dusík, argon nebo vodík, které unáší analyty přes chromatografickou kolonu směrem k detektoru. Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně, může jí být pevná látka (např. aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý, polymerní sorbent apod.) nebo vysokovroucí kapalina nanesená v tenké vrstvě na pevném, inertním nosiči. Vzorek vstříkovaný do vyhřívané nástřikové komory, která je umístěná v termostatu, kde se odpaří, a ve formě par je vzorek unášen nosným plynem do kolony. Směs analyzovaných látek se rozděljuje na jednotlivé složky v chromatografické koloně na základě jejich různé interakce se stacionární fází. Čím větší je afinita analytu ke stacionární fázi, tím více bude analyt zadržen kolonou a déle bude trvat, než bude eluován a detekován. Složky opouštějí kolonu postupně podle jejich sorpčních sil, což ovlivňuje jejich eluční čas (doba, kterou trvá, než se jednotlivé složky dostanou z kolony). Rozdělené složky procházejí detektorem, který generuje signál odpovídající jejich koncentraci. Existuje řada typů detektorů používaných v plynové chromatografii, včetně plamenového ionizačního detektoru (FID), detektoru tepelně vodivostního (TCD), nebo detektoru elektronového záchytu (ECD). V dnešní době je hodně využíván hmotnostní spektrometr (MS). GC-MS se používá v mnoha průmyslových odvětvích jako je např. potravinářství, v oblasti životního prostředí, ve forenzních odvětvích, antidopingová analýza, a i při detekci drog. Schéma plynového chromatografu je znázorněno na obrázku 7.



Obrázek 7 Schéma plynového chromatografu GC-MS - upraveno [60]

**Kapalinová chromatografie** separuje složky směsi na základě rozdílných interakcí s mobilní stacionární fází. Existují různé varianty kapalinové chromatografie: na normální fází, na reverzní fází, na iontoměničích, anebo afinitní kapalinová chromatografie. Princip spočívá v tom, že směs látek je rozpuštěna nebo suspendována v kapalině a poté vstříknuta do chromatografického systému. Během procesu je směs unášena mobilní fází přes chromatografickou kolonu, na které je stacionární fáze, a kde dochází k oddělování složek na základě jejich různých interakcí s pevnou fází. Různé složky směsi se pohybují rychlostmi závislými na jejich afinitě k stacionární fází, což vede k jejich postupnému oddělení. Po rozdělení jsou analyty před vstupem do hmotnostního spektrometru ionizovány. Nejčastější metodou ionizace je elektronová ionizace, ale mohou se používat i jiné techniky, jako je chemická ionizace, atmosférická tlaková ionizace nebo elektrosprejová ionizace. Výběr zdroje iontů je závislý na chemických vlastnostech cílového analytu, konkrétně na jeho polaritě nebo nepolaritě. Po ionizaci jsou ionty směřovány do hmotnostního analyzátoru, kde jsou separovány podle jejich poměru hmotnosti k náboji. Detektor pak zachytí tyto ionty a generuje hmotnostní spektrum. Kombinace LC-MS poskytuje vysoce citlivou, selektivní, specifickou metodu pro analýzu rozmanité řady vzorků. Využívá se forenzní vědě, při detekci kontaminantů potravinách a doplňcích stravy, kvalifikaci metabolitů léčiv v biologických materiálech aj. Zjednodušené schéma HLPC rozděleno na obrázku 8. [47]



Obrázek 8 Zjednodušené schéma HLPC [61]

**UV detektor** je zařízení, které slouží po chromatografickém rozdělení k detekci látek ve vzorcích na základě jejich absorpce UV záření při charakteristických vlnových délkách. Detektor měří intenzitu UV záření a generuje odpovídající signál. UV detektory mohou pracovat s pevnou nebo proměnnou vlnovou délkou nebo s fotodiodovým polem. Detektor se obvykle skládá z UV zdroje, kterým často bývá nízkotlaková deuteriová výbojka produkující záření v rozsahu 190 až 600 nm, nebo se také využívá wolframové lampy. Další součástí je

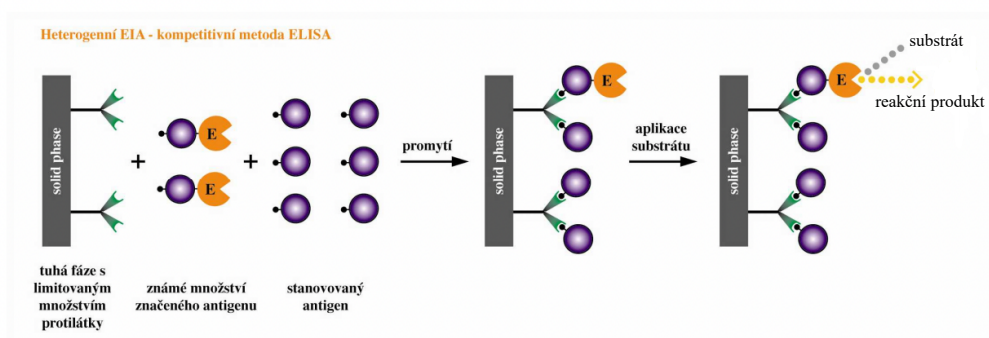
monochromátor, což je zařízení, které umožňuje propustit pouze úzkou část světelného spektra. UV paprsek pak prochází kyvetou s eluátem z chromatografu s analyty. Míra absorpce UV záření je přímo úměrná koncentraci přítomných látek ve vzorku. UV detektory mají široké spektrum využití v analytické chemii, např. při analýze biologických vzorků, jako jsou krevní séra, moč, tkáň, nebo mohou být využity na monitorování biomarkerů, léčiv, metabolitů. Své využití také nachází při kontrole kvality potravin nebo při sledování míry znečištění životního prostředí. [48]

**Hmotnostní spektrometrie (MS)** je výkonná kvalitativní i kvantitativní analytická technika používaná k identifikaci a charakterizaci analytů. Ve hmotnostním spektrometru jsou molekuly ionizovány, ionty jsou následně separovány v elektrickém a magnetickém poli podle jejich hmotnosti a náboje. Hmotnostní spektrometr má tři hlavní součásti, které zahrnují iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor. Při ionizaci molekula vzorku získá kladný náboj z ionizačního zdroje, čehož se dosahuje odstraněním valenčního elektronu nebo přidáním protonů. Existuje několik různých ionizačních zdrojů, v GC-MS je nejčastěji využívána elektronová, dále také chemická a elektrosprejová ionizace nebo také laserová desorpce a ionizace za účasti matrice. Ionty ze zdroje jsou dále transportovány iontovou optikou k hmotnostnímu analyzátoru, zde dochází k jejich oddělení a třídění na základě poměru hmotnosti k náboji (tzv. efektivní hmotnost). Existuje několik typů hmotnostních analyzátorů, včetně kvadrupólového, iontové pasti, detektor založený na měření doby průletu definovanou vzdáleností. Poslední součástí hmotnostního spektrometru je detektor, kde jsou ionty detekovány na základě jejich efektivní hmotnosti a intenzity signálu. Výsledky jsou zobrazeny jako hmotnostní spektrum, které vykresluje relativní množství iontů proti efektivní hmotnosti. Hmotnostní spektrometrie je široce využívána při forenzní analýze, ve farmaceutickém a chemickém průmyslu. Používá se v široké škále praktických aplikací, např. k diagnostice vrozených metabolických poruch, k detekci kontaminantů v potravinách, vodě a půdě, nebo také k detekci zakázaných látek v moči a krvi sportovců. [46]

**Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie (NMR)** je metoda založená na absorpci radiofrekvenčního záření jader atomů v silném magnetickém poli, poskytuje informace o struktuře molekul. V NMR se analyzuje chování jader atomů, která mají spin, což je rotační pohyb částice s hodnotou  $+1/2$  nebo  $-1/2$ . Jádra se spinem  $1/2$ , jako  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ , a  $^{31}\text{P}$ , jsou nejvhodnější pro NMR, přičemž  $^1\text{H}$  je nejpoužívanější díky své vyšší citlivosti a přítomnosti ve většině léčiv. V základním stavu jsou spiny uspořádány náhodně. Ve vnějším magnetickém poli se uspořádají souhlasně nebo opačně, čímž se rozdělí na dvě energetické

hladiny. Ozařování radiofrekvenčním zářením způsobí absorpci energie a excitaci spinů na vyšší hladinu. Po ukončení ozařování dochází k deexcitaci, kterou měříme. Silné magnetické pole, nezbytné pro vysokou intenzitu signálu, je generováno supravodivou cívkou chlazenou kapalným héliem. Vzorek je umístěn uvnitř dutiny s cívkou, kde jsou i elektrické obvody měřící sondy, které dodávají energii do vzorku a detekují emitované frekvence. Korekční cívky zajišťují homogenitu magnetického pole. [51]

**Enzymatická imunoanalýza (ELISA)** je analytická metoda využívaná k detekci a kvantifikaci antigenů nebo protilátek v biologických vzorcích. Existují čtyři hlavní varianty této metody a těmi jsou: přímá, nepřímá, sendvičová a kompetitivní. Všechny tyto varianty jsou založeny na vysoce specifické interakci antigenu a protilátky pomocí enzymatické reakce. Ke stanovení drog ve tkáních, jako je moč a krev či sliny, se využívá převážně kompetitivní ELISA. Tento typ se zakládá na soutěži mezi volnými antigeny v testovacím vzorku a antigeny fixovanými na povrchu mikrotitrační destičky. Na povrch destičky se vážou specifické protilátky, které mají afinitu k cílovému antigenu. Testovací vzorek, obsahující cílovou drogu nebo její metabolity, je přidán k destičce obsahující vázané protilátky. Pokud je v testovacím vzorku přítomen cílový antigen, dojde k soutěži mezi volnými antigeny a antigeny fixovanými na destičce o vazebné místo na protilátce. Následuje promytí nenavázaných antigenů a přidání specifické protilátky značené enzymem, např. peroxidázou či alkalickou fosfatázou. Po opětovném promytí povrchu a odstranění zbylých nenavázaných molekul se přidá substrát pro enzym a měří se spektrofotometricky intenzita zbarvení vzniklého produktu. Množství vytvořeného signálu je nepřímo úměrné koncentraci cílové drogy nebo jejích metabolitů v původním vzorku. Metody ELISA se používají ke stanovení protilátek proti infekčním onemocněním, hladiny nádorových markerů, hormonů, toxinů, potravinových alergenů. Schéma kompetitivního stanovení ELISA metody je zobrazeno na obrázku 9. [50]



Obrázek 9 Kompetitivní stanovení ELISA metody – upraveno [59]

**Agius a spol.** [77] testovali kanabinoidy ve vzorcích vlasů s koncentracemi drog kolem limitů detekce pomocí souprav LUCIO-direct ELISA a následně ověřili pomocí GC-MS nebo LC-MS. Před samotnou analýzou byla provedena enzymatická hydrolýza vlasů pomocí  $\beta$ -glukuronidázy, následovaná rekonstrukcí ve fosfátem pufovaném fyziologickém roztoku. Vlasy byly promývány dichlormethanem po dobu 10 min a následně methanolem a ponechány sušit při 50 °C v sušárně. Poté byly rozemlety mlýnkem a alikvotní část byla pomocí hydroxidu sodného štěpena, extrahována organickým rozpouštědlem a rekonstruována ve fosfátovaném roztoku. Limit detekce pro THC byl stanoven na 0,02 ng/mg. Bylo použito 166 vzorků od lidí, kteří žádali o opětovné udělení řidičského oprávnění. U 76 vzorků se zjistila koncentrace THC mezi 0,02 a 0,05 ng/mg vlasů a u 90 vzorků byly koncentrace THC pod 0,02 ng/mg vlasů. Analýza poskytla 97 % specifitu a 95% senzitivu, z čehož vyplývá, že se jedná o velice přesné testování.

## 4 STANOVENÍ THC V REÁLNÝCH VZORCÍCH

**Frei a kol.** [54] vyvinuli GC-MS metodu pro kvantitativní stanovení pěti kanabinoidů v krvi s využitím automatizované online extrakce na pevné fázi. Metoda byla plně validována podle pokynů Švýcarské společnosti právního lékařství a Společnosti toxikologické a forenzní chemie a splnila validační kritéria týkající se analytických limitů, přesnosti a preciznosti, účinnosti extrakce a stability vzorku a umožnila citlivé a robustní měření kanabinoidů v plné krvi. Limity detekce (LOD) v plné krvi byly 0,15 ng/ml pro THC, OH-THC a CBD, 0,1 ng/ml pro CBN a 1,0 ng/ml pro THC-COOH. Limity kvantifikace (LOQ) v plné krvi byly 0,3 ng/ml pro THC, OH-THC a CBD, 0,2 ng/ml pro CBN a 3,0 ng/ml pro THC-COOH. Předúprava vzorku spočívala v tom, že se k 0,25 ml plné krve, která byla stabilizovaná fluoridem, přidalo se 10  $\mu$ l roztoku vnitřního standardu, poté 1 ml 75 % acetonitrilu na vysrážení proteinů. Následovalo míchání na vortexu. Dále byl vzorek centrifugován po dobu 10 minut při 2500 g. Po odstředění byl supernatant (primární extrakt) přenesen do vzorkové lahvičky do dalšího zpracování. Automatizované SPE patrony byly kondicionovány 2 ml methanolu, 2 ml vody a 1 ml 0,1 M vodného roztoku kyseliny octové. Poté byl 1 ml primárního extraktu smíchán s 1,5 ml 0,1 M kyseliny octové a aplikován na SPE kolonku. Zředěný vzorek byl přenesen na kazetu. Patrona byla sušena dusíkem po dobu 5 minut a analyty byly eluovány pomocí přidání 0,9 ml acetonitrilu. Kvůli mrtvému objemu patrony bylo získáno pouze 0,75 ml elučního roztoku, (sekundární extrakt), který byl shromážděn v lahvičce s magnetickým uzávěrem. Poté bylo rozpouštědlo odpařeno do sucha a k vysušenému vzorku bylo přidáno 30  $\mu$ l N-methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoracetamidu. Směs byla derivatizována po dobu 20 minut při 90 °C. Finální

derivatizovaný extrakt (terciární extrakt) v množství 1 µl byl následně analyzován pomocí GC-MS na přístroji Trace GC Ultra vybaveném GC kapilárou Optima™ 5 MS ve spojení s TSQ Quantum XLS MS. Nosným plynem bylo helium při průtoku 1,5 ml/min. Program teplotního gradientu pece začal na teplotě 70 °C, která byla udržována po dobu 0,5 minuty. Teplota se poté zvyšovala o 80 °C/min, dokud nebylo dosaženo 200 °C. Ve druhé fázi byla teplota zvyšována o 10 °C/min na konečnou teplotu 300 °C, která byla udržována další 3 minuty. Celková doba analýzy trvala 18 minut. [54]

**Hubbard a spol.** [68] vyvinuli LC-MS metodu pro kvantifikaci THC, tetrahydrokanabivarinu (THCV), THC-OH, THC-COOH, THC-COOH-glukuronidu, kannabinolu (CBN), CBD a kanabigerolu (CBG) ve vzorcích plné krve. Extrakce byla provedena pomocí SPE a dolní mez kvantifikace se pohybovaly od 0,5 do 2 ng/ml. Metoda byla použita ke studiu biomarkerů, detekujících konzumaci konopí. Vzorky byly odebrány 6 hodin po kouření. THC, THC-COOH a THC-COOH-gluc byly identifikovány ve většině odebraných vzorků. THCV a CBD byly zjištěny jen zřídka. Konzumaci konopí nebylo možné prokázat na základě výsledné koncentrace THC v krvi, protože na tuto hodnotu mohou mít vliv faktory, jako je objem vdechu a délka vdechu. CBN slouží jako nejvhodnější biomarker nedávného požití. Tento analyt, který je primárním degradačním produktem THC, vykazoval nejlepší výsledky při hraniční hodnotě detekce. U chronických uživatelů lze THC-OH, THC-COOH, THC-COOH-glukuronid detekovat v krvi dny až několik týdnů po konzumaci, takže tyto analyty nejsou vhodné jako biomarkery nedávného užití.

**Stefanelli a kol.** [70] přišli s novým derivatizačním postupem s propylchlorformiátem (PCF) pro kvantitativní analýzu THC, THC-OH, THC-COOH v lidské krvi a moči. Na rozdíl od metod založených na silylačním činidle přidávaném v bezvodém prostředí umožňuje tato nově navržená metoda přidání derivatizačního činidla PCF (polychlorfenylester) přímo do deproteinizované krve a získání derivátů extrakcí kapalina-kapalina. Tato metoda může být také použita pro hydrolyzované vzorky moči. Je rychlejší než tradiční metoda zahrnující derivatizaci trimethyloxonium tetrafluoroborátem. Analyty jsou separovány, detekovány, kvantifikovány plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií. Metoda byla validována z hlediska selektivity, limitů detekce (LOD), kvantifikace (LOQ), linearity, přesnosti. LOD a LOQ v hydrolyzované moči byly 0,5 a 1,3 ng/ml pro THC, 1,2 a 2,6 ng/ml pro THC-COOH, v daném pořadí. V krvi byly LOD a LOQ 0,2 a 0,5 ng/ml pro THC, 0,2 a 0,6 ng/ml pro THC-OH a 0,9 a 24 ng/ml pro THC-COOH, v daném pořadí. Tato metoda byla aplikována na 35 vzorků moči a 50 vzorků krve. Patnáct vzorků krve nemělo žádnou detekovatelnou

koncentraci THC, THC-OH, zatímco čtyři vykazovaly nízké hladiny THC-COOH (LOQ 13,4 ng/ml). Zbývajících 12 vzorků bylo negativních pro všechny uvažované analyty.

**Korač a kol.** [71] měli za cíl aplikovat modifikovanou metodu QuEChERS (odvozeno z anglického „Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe“) k extrakci kanabinoidů z moči pomocí solí a jejich solí (síran hořečnatý, chlorid sodný, dihydrát citrátu trisodného, seskvihydrát hydrogenu sodného, wolframan sodný a křemelina) ve vhodném poměru namísto komerčně dostupných SPE kazet. Analýza byla provedena na umělém vzorku moči, ve které byly sledovány známé koncentrace THC, CBN, CBD, THC-OH a THC-COOH. Byla vybrána směs rozpouštědel acetonitril:dichlormethan (1:3), pro kterou byla získána nejlepší výtěžnost. Derivatizace všech vzorků byla provedena pomocí MSTFA (N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoracetamid) + 1 % TMCS (trimethylchlorsilan) při laboratorní teplotě. Připravené extrakty byly analyzovány pomocí GC-MS. Píky vybraných kanabinoidů byly dobře odděleny, což ukazuje, že nedošlo k žádné interferenci s vybranými analyty. Výsledky byly vypočteny z kalibrační křivky v rozsahu od LOQ do 1000 ng/ml pro vybrané kanabinoidy s korelačním faktorem 0,998. LOD a LOQ (vše v ng/ml) pro THC jsou 3 a 9, pro CBN 5 a 18, pro CBD 5 a 16, pro THC-OH 2,6 a 8,7 a pro THC-COOH 5 a 15. Modifikovanou extrakční metodu lze použít pro rutinní analýzu vybraných kanabinoidů. Tato metoda byla úspěšně aplikována na reálných vzorcích a bylo analyzováno 30 vzorků od dobrovolníků. U analyzovaných vzorků není známo, jak často tito lidé konzumovali užívali. Analýza pozitivních vzorků moči ukázala, že ve čtrnácti ze třiceti vzorků bylo THC kvantifikováno, v devíti vzorcích byla koncentrace nižší než LOQ, zatímco v sedmi vzorcích nebylo THC detekováno vůbec. Neaktivní metabolit THC-COOH byl nalezen ve dvaceti dvou vzorcích v koncentraci vyšší než LOQ (9 ng/ml). THC-COOH byl detekován v sedmi vzorcích v koncentraci nižší než LOQ. V jednom vzorku nebylo THC-COOH detekováno, ale koncentrace THC v tomto vzorku byla vysoká, takže se dalo předpokládat, že tato osoba nedávno konzumovala konopí, takže nebylo metabolizováno. Koncentrace aktivního metabolitu THC-OH byla kvantifikována v šesti vzorcích s koncentrací vyšší než LOQ (8,7 ng/ml), zatímco u devatenácti vzorků nebyl detekován. Vzácně jsou CBD a CBN vhodnými analyty pro prokázání spotřeby konopí v lidských matricích, pokud jsou CBD a CBN pozitivní, což ukazuje na nedávnou spotřebu konopí. V analyzovaných vzorcích nebylo CBD kvantifikováno, ale v deseti vzorcích bylo detekováno v koncentraci nižší než LOQ. CBN byl detekován ve dvou vzorcích, ale v koncentraci nižší než LOQ.

**Shin a spol.** [73] vyvinuli metodu kapalinové chromatografie s vysokým rozlišením hmotnostní spektrometrie (LC-HRMS) pro kvantifikaci CBD, CBN, THC-COOH, THC-COOH-glukuronid a šest stimulantů amfetaminového typu – metamfetamin, fentermin, methyldioxyamfetamin, methyldioxymetamfetamin pro velmi malá množství vzorků lidských vlasů. Vzorky lidských vlasů (10 mg) byly třikrát extrahovány 1 ml 0,5 % kyseliny mravenčí v methanolu a supernatanty byly odpařeny v proudu plynného dusíku. Zbytek byl rozpuštěn a alikvot byl analyzován pomocí LC-HRMS s použitím elektrosprejové ionizace. Limity kvantifikace (vše v pg/mg) byly 0,1 pro THC-COOH a THC-COOH-glukuronid, 4 pro CBD, CBN, THC a 10 pro šest stimulantů amfetaminového typu. Předkládaná metoda byla úspěšně aplikována na stanovení 11 analytů ve vzorcích vlasů 10 podezřelých uživatelů drog.

**Sobolensky a spol.** [74] vyvinuli LC-MS metodu pro kvantitativní analýzu CBN, CBD, THC, THC-OH, THC-COOH, THC-COOH-glukuronidu, CGB, THC, THC-glukuronidu, THCA-A ve slinách odebraných zařízením Quantisar. Extrakce na pevné fázi byla optimalizována pomocí 96 jamkových destiček Oasis Prime HLB 30 mg. Před samotnou extrakcí byly destičky Oasis Prime HLB aktivovány. Aktivace se prováděla pomocí metanolu. Tento krok pomáhá odstranit případné nečistoty a připravit destičky k efektivnímu zachycení cílových analytů z vzorku. Po aktivaci byly destičky dále kondicionovány organickým rozpouštědlem. Toto kondicionování pomáhá nastavit povrchové vlastnosti destiček pro optimální retenci analytů během extrakce. Pro tento účel se používá acetonitril. Vzorek slin byl aplikován na destičky. Limity kvantifikace byly 0,4 ng/ml pro CBN, CBD, THC, THC-OH, THCV, THC-glukuronid a 1 ng/ml pro THC-COOH, CBG, THCA-A a THC-COOH-glukuronid. Použitelnost této metody byla testována pomocí vzorků odebraných od jednotlivců náhodně přiřazených ke kouření jointu obsahujícího < 0,1 %, 5,9 %, nebo 13,4 % THC. Byli schopni identifikovat a vypočítat koncentraci 6 z 10 kanabinoidů ověřených touto metodou.

**Gorziza a spol.** [75] využili ke sledování THC a CBD sliny s nekonvenční přípravou vzorku k analýze. Malé množství orální tekutiny bylo nanášeno na papírový substrát a vysušeno na vzduchu, což umožňuje jednoduchý odběr na místě ve velkém měřítku. Špičky WAX-S jsou kazety na jedno použití, podobné technikám SPE, ale spojené s mikropipetou. Tyto špičky obsahují zabalený sorbent v pevné fázi, ve kterém směs orální tekutiny a acetonitrilu interaguje během extrakce vzorku prostřednictvím nasávání kapaliny a dávkování. Oproti analýze tekuté sliny jde o jednoduchou a nízkonákladovou techniku odběru vzorku, která vyžaduje pouze běžnou propylenovou zkumavku, špičku pipety a filtrační papír. Autoři prokázali lepší stabilitu takto odebraných vzorků ve srovnání s kapalnými vzorky, což umožňuje uchovávat vzorky



za různých teplotních a vlhkostních podmínek. V této studii došlo pomocí špiček WAX-S ke zvýšení průměrné výtěžnosti léčiva z 25 % na 90 %, s průměrem 82 % účinnosti procesu, LOD (2 ng/ml pro THC a 4 ng/ml pro CBD). Cílem studie byla optimalizace extrakce THC a CBD z vysušené skvrny a validace LC-MS analýzy s využitím umělé sliny s přidavkem THC a CBD. Jakmile byla validace metody dokončena, byla provedena slepá studie se vzorky slin, aby se vyhodnotila její použitelnost. Bylo připraveno a analyzováno osm simulovaných vzorků obsahujících THC a CBD. Cílové analyty byly správně identifikovány a potvrzeny ve všech vzorcích: tři vzorky byly pozitivní na THC; tři různé vzorky byly pozitivní na CBD a dva vzorky byly negativní na obě sloučeniny.

**Rodrigues a spol.** [76] sledovali THC, CBN a CBD ve vzorcích vlasů pravidelných uživatelů konopí bohatých na CBD. Cílem bylo určit hladiny kanabinoidů ve vlasech a vyhodnotit možnou korelaci mezi pravidelným příjmem CBD a hladinami CBD ve vlasech. Všichni účastníci konzumovali výtažky z konopí od stejného výrobce. Obsahoval CBD v různých koncentracích a malých množstvích THC s poměrem koncentrací CBD/THC 30. Vlastní deklarovaná dávka CBD se pohybovala od 4 do 128 mg CBD/den, což odpovídá dennímu příjmu THC 0,1 až 4,3 mg. Po extrakci a derivatizaci byly vzorky vlasů analyzovány pomocí validované metody GC-MS. Koncentrace CBD se pohybovaly od 10 do 325 pg/mg vlasů, ale nebyla pozorována žádná významná korelace mezi koncentracemi CBD a denní dávkou. THC bylo detekováno v jednom vzorku pouze v koncentraci pod mezní hodnotou, zatímco CBN detekován nebyl. V této studii bylo dokázáno, že i po opakované konzumaci konopných extraktů bohatých na CBD ve středních až vysokých dávkách byli spotřebitelé obecně testováni na THC ve vlasech negativně.

**Richard a spol.** se v přehledové práci věnují metodám extrakce a kvantifikace kanabinoidů z biologických matric. V případě **krve** extrakce na pevné fázi a extrakce kapalina-kapalina představují většinu technik popsanych pro extrakci kanabinoidů z krve. V poslední době je používána dvourozměrná plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (2D GC-MS). Výhody 2D GC-MS zahrnují schopnost dosáhnout nižších detekčních limitů než běžná GC-MS a zajišťuje nepřítomnost většiny nežádoucích interferencí. Mezi další metody extrakce patří extrakce jednorázovou pipetou. THC, THC-OH, THC-COOH, CBD, byly izolovány pomocí přímé extrakce kapalina-kapalina za kyselých podmínek z 1 ml plné krve. Pro kvantifikaci THC a pěti dalších kanabinoidů lze použít kapalinovou chromatografii ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Pro kvantifikaci THC, THC-OH, THC-COOH, CBD, byla navržena extrémně citlivá a selektivní kapalinová chromatografie. Pro pět

kanabinoidů (THC, CBD, CBN, THC-OH ,THC-COOH) byla mez detekce (LOD) odhadnuta na 0,25 ng/ml. [79]

Pro kvantifikaci různých kanabinoidů ve **slinách** je často využívána LC-MS. Laboratorní screening kanabinoidů pomocí imunoanalýzy nebo chromatografie prokázal, že sliny lze odebírat pasivní sekrecí, vykašláváním nebo komerčními odběrovými zařízeními. Extrakty byly následně purifikovány metodami kapalina-kapalina extrakce nebo extrakce v pevné fázi. Další laboratorní screening identifikoval THC v slinách pomocí chromatografie na tenké vrstvě. Koncentrace THC ze slin získaná z kapalinové tandemové spektrometrie byla krátce po kouření zjištěna menší než 1000 µg/l. Imunoanalýza slin přímou metodou ELISA stanovila mezní hodnotu detekce 4 µg/l, potvrzení této metody se provádělo pomocí GC-MS s mezní hodnotu 1 µg/l. [79]

Nejčastěji používanými extrakčními metodami při stanovení kanabinoidů v **moči** jsou extrakce na pevné fázi následovaná kapalinovou chromatografií ve spojení s-hmotnostní spektrometrií. Dalšími metodami, které se v poslední době používají, jsou různé varianty extrakce pevnou fází, např. jednorázová extrakce pipetou obsahující sorbent, mikroextrakční pipety, extrakce membránou z dutých vláken, či disperzní molekulární extrakce kapalina-kapalina, . Relativně jednoduchá a efektivní je extrakce vzorků vysušené moči pomocí methanolu, která má relativně vysokou účinnost extrakce. Tato technika zahrnuje odběr malého množství biologických tekutin na filtrační kartu a vysušení vzorku. Nejnovější nejspecifičtější a nejcitlivější metodou pro extrakci kanabinoidů z moči je použití enzymu β-glukuronidázy. Detekce a kvantifikace několika syntetických kanabinoidů byla provedena pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s hmostnostní spektrometrií s vysokým rozlišením. Nejnovější metoda enzymové extrakce má významnou hodnotu 2 ng/ml, která je velmi specifická. [79]

## ZÁVĚR

Tato bakalářská práce je zpracována jako rešerše na základní charakteristiku drog, jsou zde popsány účinky vybraných látek na lidské tělo a mysl. Práce se věnuje také historickému kontextu drogového užívání. Dále byla popsána příprava vzorku biologických materiálů k samostatné analýze. Ke stanovení se používá mnoho různých tkání, mezi nejpoužívanější patří krev, moč, sliny, pot a přibývá detekcí z vlasů. Nejprve je nutné vzorky vlasů dekontaminovat, aby se předešlo falešným výsledkům způsobeným vnějšími nečistotami. Poté se provádí hydrolýza a následně extrakce, která se provádí v závislosti na typu materiálu. V některých případech se provádí derivatizace vzorku, tímto procesem se docílí lepší detekovatelnosti a zvýšení stability analyzovaných látek.

Další část bakalářské práce je věnována vlastnímu stanovení, pro které se používají cenově dostupné screeningové metody. Jedná se o imunochemické testy, využívající principu specifické vazby mezi antigenem a protilátkou, což umožňuje rychlou a efektivní identifikaci přítomnosti drog. Velmi často bývají doplňovány metodami potvrzovacími. Nejběžněji využívanými potvrzovacími metodami jsou chromatografické techniky, obvykle doplněné hmotnostním spektrometrem, které poskytují vysokou úroveň specifity a citlivosti. Byly zde zahrnuty i praktické aplikace stanovení THC v biologických materiálech.

Detekce drog v tělních tkáních je komplexní proces zahrnující různé metody, od rychlých screeningových testů po vysoce přesné analytické techniky. Screeningové metody mají významné využití přímo na místě, např. při silničních kontrolách nebo při náhodné kontrole v zaměstnání. Výhodou těchto metod je rychlá dostupnost výsledků, snadná manipulace a nižší náklady v porovnání s analytickými postupy. Screeningové metody se používají spíše jako orientační, protože často poskytují falešně pozitivní či falešně negativní výsledky. Pozitivní výsledky z těchto testů zpravidla vyžadují potvrzení pomocí analytických technik. Analytické metody poskytují přesné a kvantitativní výsledky, což umožňuje stanovit přesnou koncentraci detekovaných látek. Jsou schopné detekovat velmi nízké koncentrace látek. Přesná identifikace drog má zásadní význam v oblasti forenzní analýzy, klinické diagnostiky a mnoha dalších oblastech. Detekce THC v různých typech materiálů závisí na cíli testování, požadované citlivosti a časovém rámci od užití. Pro rychlou a aktuální detekci intoxikace jsou nejlepší sliny a krev. Pro dlouhodobé sledování užívání jsou vhodnější vlasy a moč.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ESCOHOTADO, Antonio. *Stručné dějiny drog*. Volvox Globator, 2003. ISBN 80-7207-512-8.
- [2] MÁLEK, J. Fentanyl – 60 let od syntézy, historie opiodních analgetik. Online. *Anesteziologie a intenzivní medicína*. 2020, roč. 31, č. 5, s. 217-224. ISSN 1214-2158. Dostupné z: <https://www.aimjournal.cz/pdfs/aim/2020/05/04.pdf>. [cit. 2024-02-20].
- [3] *New psychoactive substances – the current situation in Europe (European Drug Report 2023)*. Online. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. 2023. Dostupné z: [https://www.emcdda.europa.eu/publications/european-drug-report/2023/new-psychoactive-substances\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/publications/european-drug-report/2023/new-psychoactive-substances_en). [cit. 2024-02-20].
- [4] KALINA, Kamil. *Klinická adiktologie*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4331-8.
- [5] KAMIL, Kalina. *Drogy a drogové závislosti*. Praha: Úřad vlády České republiky, 2003. ISBN 80-86734-05-6.
- [6] FAROOQUI, Tahira and FAROOQUI, Akhlaq A. Trace Amines and Neurological Disorders. Online. 2016, s. 339-347. ISSN 9780128036037. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128036037000239?via%3Dihub>. [cit. 2024-02-27].
- [7] DOCHERTY, James R. a ALSUFYANI, Hadeel A. Pharmacology of Drugs Used as Stimulants. Online. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2021, roč. 61, č. S2. ISSN 0091-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcph.1918>. [cit. 2024-02-28].
- [8] ALQARNI, Hatem; ALDGHIM, Adhwaa; ALKAHTANI, Rose; ALSHAHRANI, Nasser; ALTOMAN, Majed S. et al. Crystal methamphetamine and its effects on mental and oral health: A narrative review. Online. *The Saudi Dental Journal*. 2024. ISSN 10139052. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2024.02.011>. [cit. 2024-02-28]
- [9] MÁLEK, J. Sto šedesát let od izolace kokainu a 115 let od syntézy prokainu – historie lokálních anestetik a jejich objevitelů Online. *Anesteziologie a intenzivní medicína*. 2020, roč. 31, č. 4, s. 157-164. ISSN 12142158. Dostupné z: <https://doi.org/10.36290/aim.2020.034>. [cit. 2024-02-29].

- [10] SMART, Reginald G. Crack Cocaine Use: A Review of Prevalence and Adverse Effects. Online. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*. 2009, roč. 17, č. 1, s. 13-26. ISSN 0095-2990. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/00952999108992806>. [cit. 2024-03-03]
- [11] NIDA. "What is MDMA?." *National Institute on Drug Abuse*, 19 Dec. 2022, <https://nida.nih.gov/publications/research-reports/mdma-ecstasy-abuse/what-mdma> Accessed 3 Mar. 2024.
- [12] COSTA, Giulia a GOŁEMBIOWSKA, Krystyna. Neurotoxicity of MDMA: Main effects and mechanisms. Online. *Experimental Neurology*. 2022, roč. 347. ISSN 00144886. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113894>. [cit. 2024-06-22].
- [13] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 1615,3,4Methylenedioxyamphetamine. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3\\_4-Methylenedioxyamphetamine](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3_4-Methylenedioxyamphetamine). Accessed Mar. 4, 2024.
- [14] WATERS, Kristin. Pharmacologic Similarities and Differences Among Hallucinogens. Online. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2021, roč. 61, č. S2. ISSN 0091-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jcph.1917>. [cit. 2024-03-05].
- [15] ECLINICALMEDICINE. Psychedelic medicine and the clinical application of hallucinogens. Online. *EClinicalMedicine*. 2023, roč. 56. ISSN 25895370. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.101891>. [cit. 2024-03-05].
- [16] KARGBO, Robert B. Psilocybin Therapeutic Research: The Present and Future Paradigm. Online. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2020, roč. 11, č. 4, s. 399-402. ISSN 1948-5875. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.0c00048>. [cit. 2024-03-06].
- [17] NICHOLS, David E. Psilocybin: from ancient magic to modern medicine. Online. *The Journal of Antibiotics*. 2020, roč. 73, č. 10, s. 679-686. ISSN 0021-8820. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0311-8>. [cit. 2024-03-06].
- [18] MANDAL, Suprio; SINHA, VinodKumar a GOYAL, Nishant. Efficacy of ketamine therapy in the treatment of depression. Online. *Indian Journal of Psychiatry*. 2019, roč. 61, č. 5. ISSN 0019-5545. Dostupné z: [https://doi.org/10.4103/psychiatry.IndianJPsychiatry\\_484\\_18](https://doi.org/10.4103/psychiatry.IndianJPsychiatry_484_18). [cit. 2024-03-08].
- [19] IVAN EZQUERRA-ROMANO, I.; LAWN, W.; KRUPITSKY, E. a MORGAN, C.J.A. Ketamine for the treatment of addiction: Evidence and potential mechanisms.

Online. *Neuropharmacology*. 2018, roč. 142, s. 72-82. ISSN 00283908. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.01.017>. [cit. 2024-03-08].

[20] DINIS-OLIVEIRA, Ricardo Jorge; PEREIRA, Carolina Lança a DA SILVA, Diana Dias. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Aspects of Peyote and Mescaline: Clinical and Forensic Repercussions. Online. *Current Molecular Pharmacology*. 2019, roč. 12, č. 3, s. 184-194. ISSN 18744672. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1874467211666181010154139>. [cit. 2024-03-08].

[21] STRECK, Joanna M.; HUGHES, John R.; KLEMPERER, Elias M.; HOWARD, Alan B. a BUDNEY, Alan J. Modes of cannabis use: A secondary analysis of an intensive longitudinal natural history study. Online. *Addictive Behaviors*. 2019, roč. 98. ISSN 03064603. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2019.106033>. [cit. 2024-03-12].

[22] WIEGAND, Timothy J. Marijuana. Online. In: *Encyclopedia of Toxicology*. Elsevier, 2024, s. 31-36. ISBN 9780323854344. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.01042-3>. [cit. 2024-03-14].

[23] *The Health Effects of Cannabis and Cannabinoids*. Online. Washington, D.C: National Academies Press, 2017. ISBN 978-0-309-45304-2. Dostupné z: <https://doi.org/10.17226/24625>. [cit. 2024-03-18].

[24] GROTENHERMEN, Franjo a MÜLLER-VAHL, Kirsten. Medicinal Uses of Marijuana and Cannabinoids. Online. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2016, roč. 35, č. 5-6, s. 378-405. ISSN 0735-2689. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/07352689.2016.1265360>. [cit. 2024-03-18].

[25] MIOVSKÝ, Michal. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2

[26] HAMILL, Jonathan; HALLAK, Jaime; DURSUN, Serdar M. a BAKER, Glen. Ayahuasca: Psychological and Physiologic Effects, Pharmacology and Potential Uses in Addiction and Mental Illness. Online. *Current Neuropharmacology*. 2019, roč. 17, č. 2, s. 108-128. ISSN 1570159X. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1570159X16666180125095902>. [cit. 2024-03-18].

[27] ROSSI, Giordano Novak; GUERRA, Lorena T. L.; BAKER, Glen B.; DURSUN, Serdar M.; SAIZ, José Carlos Bouso et al. Molecular Pathways of the Therapeutic Effects of Ayahuasca, a Botanical Psychedelic and Potential Rapid-Acting Antidepressant.

Online. *Biomolecules*. 2022, roč. 12, č. 11. ISSN 2218-273X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biom12111618>. [cit. 2024-03-18].

[28] BECKLEY, Jacob T a WOODWARD, John J. Volatile Solvents as Drugs of Abuse: Focus on the Cortico-Mesolimbic Circuitry. Online. *Neuropsychopharmacology*. 2013, roč. 38, č. 13, s. 2555-2567. ISSN 0893-133X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/npp.2013.206>. [cit. 2024-03-24].

[29] CRUZ, Silvia L.; RIVERA-GARCÍA, María Teresa a WOODWARD, John J. Review of Toluene Actions: Clinical Evidence, Animal Studies, and Molecular Targets. Online. *Journal of Drug and Alcohol Research*. 2014, roč. 3, s. 1-8. ISSN 2090-8334. Dostupné z: <https://doi.org/10.4303/jdar/235840>. [cit. 2024-03-24].

[30] Knuf K, Maani CV. Nitrous Oxide. [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532922/#>

[31] NECHANSKÁ, Blanka; MRAVČÍK, Viktor a POPOV, Petr. *Zneužívání psychoaktivních léků v České republice: identifikace a analýza zdrojů dat*. Monografie (Úřad vlády České republiky). Praha: Úřad vlády České republiky, c2012. ISBN 978-80-7440-073-5.

[32] Skibiski J, Patel P, Abdijadid S. Barbiturates. [Updated 2024 Jan 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539731/>

[33] Suddock JT, Kent KJ, Cain MD. Barbiturate Toxicity. [Updated 2023 Apr 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499875/#>

[34] EDINOFF, Amber N.; NIX, Catherine A.; HOLLIER, Janice; SAGRERA, Caroline E.; DELACROIX, Blake M. et al. Benzodiazepines: Uses, Dangers, and Clinical Considerations. Online. *Neurology International*. 2021, roč. 13, č. 4, s. 594-607. ISSN 2035-8377. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/neurolint13040059>. [cit. 2024-04-02].

[35] HENDRIKS, Henk F.J. Alcohol and Human Health: What Is the Evidence? Online. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2020, roč. 11, č. 1, s. 1-21. ISSN 1941-1413. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051827>. [cit. 2024-04-02].

- [36] CHOMYNOVÁ, P., GROHMANNOVÁ, K., DVOŘÁKOVÁ, Z., ORLÍKOVÁ, B., ROUS, Z., ČERNÍKOVÁ, T. 2023. Souhrnná zpráva o závislostech v České republice 2022 [Summary Report on Addictions in the Czech Republic in 2022] CHOMYNOVÁ, P. (Ed.). [cit. 2024-04-08].
- [37] McNeil SE, Chen RJ, Cogburn M. Drug Testing. [Updated 2023 Jul 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459334/> [cit. 2024-04-08].
- [38] Anderson, Jared L. Berthod, Alain Estévez, Verónica Pino Stalcup, Apryll M. (2015). Analytical Separation Science, 5 Volume Set. John Wiley & Sons. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpASSVS003/analytical-separation/analytical-separation> [cit. 2024-04-08].
- [39] Center for Substance Abuse Treatment. Substance Abuse: Clinical Issues in Intensive Outpatient Treatment. Rockville (MD): Substance Abuse and Mental Health Services Administration (US); 2006. (Treatment Improvement Protocol (TIP) Series, No. 47.) Appendix B. Urine Collection and Testing Procedures and Alternative Methods for Monitoring Drug Use. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK64092/> [cit. 2024-04-08].
- [40] HADLAND, Scott E. a LEVY, Sharon. Objective Testing. Online. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*. 2016, roč. 25, č. 3, s. 549-565. ISSN 10564993. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chc.2016.02.005>. [cit. 2024-04-08].
- [41] HANCI, Hamit; GÖRGÜN, Büşra; FİDAN, Kubra a KOZACI, Leyla Didem. HIGH SENSITIVITY IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST FOR DETECTION OF ILLICIT DRUGS IN ORAL FLUID: A FIGHT AGAINST DRUGS OF ABUSE. Online. *Journal of Basic and Clinical Health Sciences*. 2021, roč. 5, č. 1, s. 49-53. ISSN 2564-7288. Dostupné z: <https://doi.org/10.30621/jbachs.873363>. [cit. 2024-04-08].
- [42] MIRICA, Andreea-Cristina; STAN, Dana; CHELCEA, Ioana-Cristina; MIHAILESCU, Carmen Marinela; OFITERU, Augustin et al. Latest Trends in Lateral Flow Immunoassay (LFIA) Detection Labels and Conjugation Process. Online. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022, roč. 10. ISSN 2296-4185. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.922772>. [cit. 2024-04-09].
- [43] Tadikonda, Rama & Harshitha, Sappidi & Lahari, Kurapati. (2023). GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROSCOPY: AN OVERVIEW. *European journal of*



pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences. 10. 83-89. [cit. 2024-04-12].

[44] GOZDZIALSKI, Lea; WALLACE, Bruce a HORE, Dennis. Point-of-care community drug checking technologies: an insider look at the scientific principles and practical considerations. Online. *Harm Reduction Journal*. 2023, roč. 20, č. 1. ISSN 1477-7517. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12954-023-00764-3>. [cit. 2024-04-12].

[45] Verstraete AG, Mukhdomi T. Clinical Drug Testing. [Updated 2023 Apr 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557523/> [cit. 2024-04-12].

[46] Garg E, Zubair M. Mass Spectrometer. [Updated 2023 Jan 21]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589702/> [cit. 2024-04-19].

[47] PRATIMA, Nikalje Anna. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and Its Applications: A Brief Review. Online. *Archives of Organic and Inorganic Chemical Sciences*. 2018, roč. 1, č. 1. ISSN 26374609. Dostupné z: <https://doi.org/10.32474/AOICS.2018.01.000103>. [cit. 2024-04-19].

[48] WYSOCKI, Jędrzej a W.DONG, Michael. Ultraviolet Detectors: Perspectives, Principles, and Practices. Online. *LCCG international*. 2019, roč. 2019, č. 10, article 37, s. 750-759. Dostupné z: <https://www.chromatographyonline.com/view/ultraviolet-detectors-perspectives-principles-and-practices>. [cit. 2024-04-28].

[49] SANTIAGO, Marina a STROBEL, Scott. Thin Layer Chromatography. Online. In: *Laboratory Methods in Enzymology: Cell, Lipid and Carbohydrate*. Methods in Enzymology. Elsevier, 2013, s. 303-324. ISBN 9780124200678. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420067-8.00024-6>. [cit. 2024-05-01]

[50] Alhadj M, Zubair M, Farhana A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. [Updated 2023 Apr 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>. [cit. 2024-05-01]

[51] SILVA, Pollyana Ferreira da; GOMES, Bruna Ferreira; LOBO, Carlos Manuel Silva; QUEIROZ JÚNIOR, Luiz Henrique Keng; DANIELI, Ernesto et al. Electrochemical NMR spectroscopy: Electrode construction and magnetic sample stirring. Online. *Microchemical*

*Journal*. 2019, roč. 146, s. 658-663. ISSN 0026265X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.01.010>. [cit. 2024-05-02].

[52] RODRIGO VALERO, Alba M.; JORGE, Oscar Quintela; SERRANO, Begoña Bravo a TEJEDOR, Sara Ayuso. Optimization of a rapid method for screening drugs in blood by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Online. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. 2023, roč. 4, č. 4, s. 365-371. ISSN 2628-491X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/almed-2023-0154>. [cit. 2024-05-02].

[53] DE GIOVANNI, N. a FUCCI, N. The Current Status of Sweat Testing For Drugs of Abuse: A Review. Online. *Current Medicinal Chemistry*. 2013, roč. 20, č. 4, s. 545-561. ISSN 09298673. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/0929867311320040006>. [cit. 2024-05-02].

[54] FREI, Priska; FRAUCHIGER, Stephanie; SCHEURER, Eva a MERCER-CHALMERS-BENDER, Katja. Quantitative determination of five cannabinoids in blood and urine by gas chromatography tandem mass spectrometry applying automated on-line solid phase extraction. Online. *Drug Testing and Analysis*. 2022, roč. 14, č. 7, s. 1223-1233. ISSN 1942-7603. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/dta.3241>. [cit. 2024-05-07].

[55] MALMBERG, Kasper. *Claviceps purpurea*. Online. In: iNaturalist. Dostupné z: <https://www.inaturalist.org/photos/47424140>. [cit. 2024-05-08].

[56] ROCKEFFELER, Alan. *Psilocybe cubensis*. Online. In: Mushroom observer. 2019. Dostupné z: <https://mushroomobserver.org/370106>. [cit. 2024-05-08].

[57] ANTUŠEK, Ivo. *Lophophora williamsii*. Online. In: BioLib.cz. 2006. Dostupné z: <https://www.biolib.cz/cz/image/id16947/>. [cit. 2024-05-07].

[58] BROŽ, Petr. *Cannabis sativa*. Online. In: Wikipedia. 2010. [cit. 2024-05-07].

[59] SLOVÁKOVÁ, Marcela; BÍLKOVÁ, Zuzana a KORECKÁ, Lucie. *Vybraná laboratorní cvičení z imunoanalytických metod*. Vyd. 1. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2013. ISBN 978-80-7395-610-3. [cit. 2024-05-07].

[60] KOLAPKAR, Shreyas. *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) block diagram*. Online. In: ResearchGate. 2018. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Gas-Chromatography-Mass-Spectrometry-GC-MS-block-diagram\\_fig9\\_328064295](https://www.researchgate.net/figure/Gas-Chromatography-Mass-Spectrometry-GC-MS-block-diagram_fig9_328064295). [cit. 2024-05-08].

- [61] VŠB-TU, Ostrava. *Stanovení polyaromatických uhlovodíků ve vodném prostředí metodou vysokoučinné kapalinové chromatografie (HPLC) s fluorescenční detekcí: Zjednodušené schéma HLPC.* Online. Dostupné z: [https://www.hgf.vsb.cz/export/sites/hgf/546/.content/galerie-souboru/Studijni-materialy/Navody\\_k\\_praktiku.pdf](https://www.hgf.vsb.cz/export/sites/hgf/546/.content/galerie-souboru/Studijni-materialy/Navody_k_praktiku.pdf). [cit. 2024-05-08].
- [62] Larkins MC, Thombare A. Point-of-Care Testing. [Updated 2023 May 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK592387/>. [cit. 2024-05-15].
- [63] RESCHLY-KRASOWSKI, Justine M. a KRASOWSKI, Matthew D. A Difficult Challenge for the Clinical Laboratory: Accessing and Interpreting Manufacturer Cross-Reactivity Data for Immunoassays Used in Urine Drug Testing. Online. *Academic Pathology*. 2018, roč. 5. ISSN 23742895. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/2374289518811797>. [cit. 2024-05-16].
- [64] SAITO, Yoshihiro a NAKAGAMI, Koki. Sample preparation for the analysis of drugs in biological fluids. Online. In: *Methods of Therapeutic Drug Monitoring Including Pharmacogenetics. Handbook of Analytical Separations*. Elsevier, 2020, s. 1-13. ISBN 9780444640666. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64066-6.00001-0>. [cit. 2024-05-17].
- [65] RAMÍREZ FERNÁNDEZ, María del Mar; WILLE, Sarah M. R.; YEGLES, Michel a SAMYN, Nele. Evaluation of decontamination procedures for drug testing in undamaged versus damaged hair. Online. *Drug Testing and Analysis*. 2022, roč. 14, č. 6, s. 1155-1165. ISSN 1942-7603. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/dta.3237>. [cit. 2024-06-18].
- [66] KYLE, P.B. Toxicology: GCMS. Online. In: *Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory*. Elsevier, 2017, s. 131-163. ISBN 9780128008713. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800871-3.00007-9>. [cit. 2024-05-18].
- [67] BADAWY, Mohamed E. I.; EL-NOUBY, Mahmoud A. M.; KIMANI, Paul K.; LIM, Lee W. a RABEA, Entsar I. A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. Online. *Analytical Sciences*. 2022, roč. 38, č. 12, s. 1457-1487. ISSN 0910-6340. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s44211-022-00190-8>. [cit. 2024-05-18].

- [68] HUBBARD, Jacqueline A.; SMITH, Breland E.; SOBOLESKY, Philip M.; KIM, Sollip; HOFFMAN, Melissa A. et al. Validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method to detect cannabinoids in whole blood and breath. Online. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020, roč. 58, č. 5, s. 673-681. ISSN 1437-4331. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0600>. [cit. 2024-05-25]
- [69] SHAH, Iltaf; AL-DABBAGH, Bayan; SALEM, Alaa Eldin; HAMID, Saber A.A.; MUHAMMAD, Neak et al. A review of bioanalytical techniques for evaluation of cannabis (Marijuana, weed, Hashish) in human hair. Online. *BMC Chemistry*. 2019, roč. 13, č. 1. ISSN 2661-801X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0627-2>. [cit. 2024-06-13].
- [70] STEFANELLI, Fabio; PESCI, Federica Giorgia; GIUSIANI, Mario a CHERICONI, Silvio. A novel fast method for aqueous derivatization of THC, OH-THC and THC-COOH in human whole blood and urine samples for routine forensic analyses. Online. *Biomedical Chromatography*. 2018, roč. 32, č. 4. ISSN 0269-3879. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bmc.4136>. [cit. 2024-06-18].
- [71] Modified QuEChERS extraction and GC-MS analysis of selected cannabinoids from human urine. Online. *Glasnik hemicara i Technologa Bosne i Hercegovine*. 2020, č. 54. ISSN 2232-7266. Dostupné z: <https://doi.org/10.35666/ghtbh.2020.54.07>. [cit. 2024-06-18].
- [72] SURAEV, Anastasia; MCCARTNEY, Danielle; KEVIN, Richard; GORDON, Rebecca; GRUNSTEIN, Ronald R. et al. Detection of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) in oral fluid using two point-of-collection testing devices following oral administration of a THC and cannabidiol containing oil. Online. *Drug Testing and Analysis*. ISSN 1942-7603. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/dta.3658>. [cit. 2024-06-18].
- [73] SHIN, Yongho; KIM, Jin Young; CHEONG, Jae Chul; KIM, Ju-Hyun; KIM, Jeong-Han et al. Liquid chromatography-high resolution mass spectrometry for the determination of three cannabinoids, two (-)-trans- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol metabolites, and six amphetamine-type stimulants in human hair. Online. *Journal of Chromatography B*. 2020, roč. 1149. ISSN 15700232. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122157>. [cit. 2024-06-18].
- [74] SOBOLESKY, Philip M.; SMITH, Breland E.; HUBBARD, Jacqueline A.; STONE, Judy; MARCOTTE, Thomas D. et al. Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for analyzing cannabinoids in oral fluid. Online. *Clinica Chimica Acta*.

2019, roč. 491, s. 30-38. ISSN 00098981. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.01.002>. [cit. 2024-06-18].

[75] GORZIZA, Roberta; COX, Joseph; LIMBERGER, Renata Pereira a ARROYO-MORA, Luis E. Study of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) extraction FROM dried oral fluid spots (DOFS) and LC–MS/MS detection. Online. *Journal of Cannabis Research*. 2021, roč. 3, č. 1. ISSN 2522-5782. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s42238-021-00088-8>. [cit. 2024-06-19].

[76] RODRIGUES, Anaïs; YEGLES, Michel; VAN ELSUÉ, Nicolas a SCHNEIDER, Serge. Determination of cannabinoids in hair of CBD rich extracts consumers using gas chromatography with tandem mass spectrometry (GC/MS–MS). Online. *Forensic Science International*. 2018, roč. 292, s. 163-166. ISSN 03790738. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.09.015>. [cit. 2024-06-19].

[77] AGIUS, Ronald a NADULSKI, Thomas. Utility of ELISA screening for the monitoring of abstinence from illegal and legal drugs in hair and urine. Online. *Drug Testing and Analysis*. 2014, roč. 6, č. S1, s. 101-109. ISSN 1942-7603. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/dta.1644>. [cit. 2024-06-21].

[78] ARKELL, Thomas R.; KEVIN, Richard C.; STUART, Jordyn; LINTZERIS, Nicholas; HABER, Paul S. et al. Detection of  $\Delta^9$  THC in oral fluid following vaporized cannabis with varied cannabidiol (CBD) content: An evaluation of two point-of-collection testing devices. Online. *Drug Testing and Analysis*. 2019, roč. 11, č. 10, s. 1486-1497. ISSN 1942-7603. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/dta.2687>. [cit. 2024-06-21].

[79] RICHARD, Priscilla; OBEROI, Ruhani Kaur; SENGUPTA, Sutirtha; DATTA, Akashdeep; SWATHI, P. K. et al. A Review Study on Methods of Extraction & Quantification of Cannabinoids from Biological Samples. Online. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. 2023, roč. 14, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.47750/pnr.2023.14.02.362>. [cit. 2024-06-25].

