

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Laboratoř forenzní analýzy biologicky aktivních látek, Ústav chemie přírodních látek

Ústav analytické chemie

a

Národní ústav duševního zdraví

Stanovení psilocinu, aktivního defosforylovaného metabolitu psilocybinu, v krevním séru pomocí LC-MS/MS techniky

Certifikovaná metodika

Autorský kolektiv: Ing. Kateřina Hájková, Ing. Martin Kuchař, Ph.D.
Adresa: VŠCHT Praha
Laboratoř forenzní analýzy biologicky aktivních látek
Technická 1905/5
166 28 Praha
Kontakt: martin.kuchar@vscht.cz
+420 220 44 4431

Praha, 2020

OBSAH

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 1 | CÍL METODIKY | 3 |
| 2 | VLASTNÍ POPIS METODIKY | 4 |
| 2.1 | Teoretický úvod | 4 |
| 2.2 | Popis metodiky | 4 |
| 2.2.1 | Princip UHPLC-MS/MS metody pro stanovení | 4 |
| 2.2.2 | Přístroje a laboratorní pomůcky | 5 |
| 2.2.3 | Chemikálie a spotřební materiál | 6 |
| 2.2.4 | Příprava a skladování roztoků referenčních standardů | 6 |
| 2.2.5 | Příprava vzorků pro UHPLC-MS/MS analýzu | 6 |
| 2.2.6 | Příprava matričních standardů a kontrolních vzorků | 7 |
| 2.2.7 | UHPLC-MS/MS analýza | 8 |
| 2.2.8 | Identifikace a kvantifikace | 11 |
| 2.2.9 | Bezpečnost práce | 11 |
| 2.3 | Validační parametry metody | 12 |
| 2.3.1 | Lineární rozsah kalibrační řady | 12 |
| 2.3.2 | Limit detekce (LOD) a limit kvantifikace (LOQ) | 12 |
| 2.3.3 | Přesnost a preciznost metody | 12 |
| 3 | NOVOST METODIKY | 14 |
| 4 | POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY | 15 |
| 5 | SEZNAM LITERATURY | 16 |
| 6 | SEZNAM PUBLIKACÍ PŘEDCHÁZEJÍCÍCH METODICE | 17 |
| 7 | ODKAZ NA PŘÍSLUŠNÝ PROJEKT VÝZKUMU A VÝVOJE | 18 |
| 8 | SOUHLAS ŽADATELE S BEZPLATNÝM VYUŽITÍM METODIKY V POLICII, KTERÝ JE UDĚLEN PO PŘEDCHOZÍM PROJEDNÁNÍ S AUTOREM/AUTORY METODIKY | 19 |
| 9 | PŘÍLOHY | 20 |

1 CÍL METODIKY

Cílem této metodiky bylo vyvinout, optimalizovat a validovat metodu pro stanovení psilocinu v séru pomocí LC-MS/MS techniky.

2 VLASTNÍ POPIS METODIKY

2.1 Teoretický úvod

Psilocybin (*O*-fosforyl-4-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin) a psilocin (4-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin) se řadí mezi tryptaminové alkaloidy obsažené v halucinogenních houbách převážně rodu *Psilocybe*. Psilocybin po administraci metabolizuje na farmakologicky aktivní, ale méně stabilní psilocin.^{1,2} V krevním séru lze kromě samotného psilocinu nalézt konjugáty psilocinu s glukuronidovou kyselinou (cca 80 %).^{3,4}

Nejedná se o příliš stabilní látky, zejména na vzduchu a působením světla rychle oxidují.⁵ Strukturně se tyto látky podobají neurotransmitteru serotoninu. Po jejich aplikaci dochází ke stimulaci serotonergních receptorů, zejména 5HT_{2A}, 5HT_{2C} a 5HT_{1C}.¹ Vyvolávají změny ve vnímání času, vědomí (depersonalizace, derealizace), emotivity, a mohou vést až k psychotickým stavům.⁶ Užívání těchto látek zejména za volantem či na pracovištích může vést k závažným poškozením zdraví či majetku.

Oba tryptaminy jsou zahrnuty v příloze I Úmluvy OSN, o psychotropních látkách, z roku 1971. V české legislativě jsou uvedeny v příloze č. 4, nařízení vlády č. 463/2013 Sb., o seznamech návykových látek.

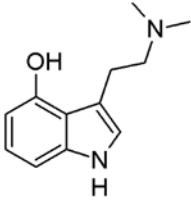
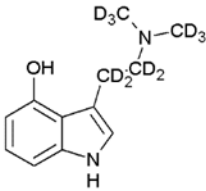
V současné době se psychedeliky zabývá řada výzkumných skupin z důvodu jejich možného využití v medicínské praxi při léčbě úzkostí, depresí a závislostí. Velké popularitě se nově těší i tzv. “psychedelic microdosing”, při kterém se podávají podprahové dávky psychedelik pro zvýšení kreativity a výkonnosti.

2.2 Popis metodiky

2.2.1 Princip UHPLC-MS/MS metody pro stanovení

Pro stanovení psilocinu v lidském séru byla použita metoda UHPLC-MS/MS s ionizací elektrosperejem (ESI) v pozitivním módu. Data byla sbírána v režimu dMRM (dynamic multiple reaction monitoring) a kvantifikována s pomocí externí matriční kalibrace za použití deuterovaného vnitřního standardu psilocin-D10. Popis a struktura sledovaných analytů jsou uvedeny v **Tab.1**.

Tabulka 1: Popis a struktura sledovaných analytů

| Analyt | Strukturní vzorec | CAS číslo |
|--------------|---|--------------|
| psilocin |  | 520-53-6 |
| psilocin-D10 |  | 1435934-64-7 |

2.2.2 Přístroje a laboratorní pomůcky

- Běžné laboratorní sklo a spotřební materiál
- Analytické váhy ABT 220-5DM (Kern, Německo)
- Automatické pipety 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Biohit, Finsko)
- Dávkoč krokový HandyStep® (Brand)
- Plastové mikrozkušavky Eppendorf Safe-Lock 1,5 ml (Eppendorf, Česká republika)
- Centrifugační mikrofiltry PDVF (Ciro Manufacturing, USA)
- Třepačka IKA VORTEX 4 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Německo)
- Minitřepačka IKA VORTEX 1 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Německo)
- Suchá lázeň DKT200-2 (Miulab, Čína)
- Centrifuga Hettich Universal 320R (Hettich, Německo)
- Vakuový koncentrátor Refrigerated CentriVap Concentrator (Labconco, USA)
- Úpravna vody Barnstead™ Smart2Pure™ (ThermoFisher Scientific, USA)
- UHPLC Agilent 1290 Infinity s hmotnostním detektorem typu QqQ Agilent 6460 (Agilent Technologies, USA)
- Chromatografická kolona Zorbax Eclipse Plus C18; 2,1 × 50 mm; 1,8 µm (Agilent Technologies, USA)
- Chromatografická předkolona Zorbax Eclipse Plus C18; 2,1 × 5 mm; 1,8 µm (Agilent Technologies, USA)

2.2.3 Chemikálie a spotřební materiál

- Methanol LC-MS Chromasolv (Merck, Česká republika)
- Acetonitril LC-MS Chromasolv (Merck, Česká republika)
- Kyselina mravenčí LC-MS (Merck, Česká republika)
- Kyselina octová LC-MS (Merck, Česká republika)
- Octan amonný LC-MS (Merck, Česká republika)
- Ultra-čistá voda 18,2 M Ω cm⁻¹ systém Smart2Pure 12 (Thermo Fisher Scientific, Česká republika)
- β -Glukuronidasa, Typ H-1, částečně purifikovaný prášek, $\geq 300,000$ U/g (Merck, Česká republika)
- Kyselina askorbová (Penta, Česká republika)
- Psilocin, $\geq 95\%$, pevná forma (Cayman Chemical, USA)
- Psilocin-D10, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ v acetonitrilu, CRM (Cerilliant, USA)

2.2.4 Příprava a skladování roztoků referenčních standardů

Standardy v pevné formě byly naváženy do tmavé šroubovací skladovací vialky a rozpuštěny v methanolu na koncentraci 1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, tento zásobní roztok byl uskladněn při -20°C . Pracovní roztok byl dále naředěn methanolem na 10 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, ze kterého se další roztoky ředily dle potřeby. Vnitřní deuterovaný standard byl acetonitrilem naředěn na koncentraci 2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, nejlépe připravit v nadbytku, aby objem vystačil na přípravu celé analýzy. Všechny roztoky uchovávat v -20°C ne déle než 6 měsíců.

2.2.5 Příprava vzorků pro UHPLC-MS/MS analýzu

Postup bez hydrolýzy:

Do mikrozkušavek bylo odebráno 200 μl séra. Sérum bylo naředěno 200 μl roztoku 0,1% (v/v) k. octové ve vodě a promícháno na vortexu (po dobu 1 min, 2500 ot/min). Ke každému vzorku bylo přidáno 5 μl vnitřního deuterovaného standardu (2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ v acetonitrilu) a roztok byl opět promíchán na vortexu (po dobu 1 min, 2500 ot/min). Následně byl roztok srážen dvěma postupnými přidávkami 400 μl acetonitrilu (po každé přidávce byl vzorek 1 minutu vortexován 2500 ot/min). Po odstředění (10 min, 5°C , 12000 ot/min) byl odebrán alikvót 960 μl , který se nechal odpařit ve SpeedVacu (vacuový koncentrátor). Následovala rekonstituce ve 250 μl 5% methanolu ve vodě (v/v) s přidávkou 10 mM k. mravenčí ve vodě, promíchání na vortexu (po

dobu 10 min, 2500 ot/min) a odstředění (10 min, 25°C, 12000 ot/min). Roztok byl převeden do insertů a následně měřen pomocí LC-MS/MS.

Postup s hydrolyzou (celkový obsah psilocinu):

Do mikrozkušavek bylo odebráno 100 µl séra a přidáno 10 µl 0,1 M roztoku k. askorbové ve vodě. Ke každému vzorku bylo přidáno 5 µl vnitřního deuterovaného standardu (2 µg.ml⁻¹ v acetonitrilu) a roztok byl promíchán na vortexu (po dobu 1 min, 2500 ot/min). Následně bylo k roztoku přidáno 290 µl 50 mM octanového pufru ve vodě (pH 4.5) s 500 U *beta*-glukuronidasy. Vzorek byl 1 minutu vortexován při 2500 ot/min a umístěn do suché lázně (37°C, 4 h). Následně byl roztok srážen dvěma postupnými přidávkami 400 µl acetonitrilu (po každém přidávku byl vzorek 1 minutu vortexován 2500 ot/min). Po odstředění (10 min, 5°C, 12000 ot/min) byl odebrán alikvót 960 µl, který se nechal odpařit ve SpeedVacu (vacuový koncentrátor). Následovala rekonstituce ve 250 µl 5% methanolu ve vodě (v/v) s přidávkem 10 mM k. mravenčí ve vodě, promíchání na vortexu (po dobu 10 min, 2500 ot/min) a odstředění (10 min, 25°C, 12000 ot/min). Roztok byl převeden do insertů a následně měřen pomocí LC-MS/MS.

2.2.6 Příprava matričních standardů a kontrolních vzorků

Příprava matriční kalibrace a kontrolních vzorků spočívala v obohacení blankového séra standardem na potřebné koncentrační hladiny (viz **Tab.2**). Dále bylo s těmito vzorky postupováno dle návodu uvedeného v kapitole **2.2.5. Příprava vzorků pro UHPLC-MS/MS analýzu** – postup bez hydrolyzy. Kontrolní body na dvou hladinách ve dvou opakováních.

Tabulka 2: Příprava matriční kalibrace a kontrolních vzorků

| počet opakování | c [ng.ml ⁻¹] analytu v séru | objem séra | x ng std na 200 µl séra | V [µl] – pracovní roztoky standardu | | | |
|-----------------|---|------------|-------------------------|---|---|-----|------|
| | | | | koncentrace roztoků v µg.ml ⁻¹ | | | |
| | | | | 10 | 5 | 0,5 | 0,05 |
| 1× | blank | | 0 | | | | |
| 1× | 0,5 | | 0,1 | | | | 2 |
| 1× | 1 | | 0,2 | | | | 4 |
| 2× | 5 | 200 µl | 1 | | | 2 | |
| 1× | 10 | | 2 | | | 4 | |
| 2× | 50 | | 10 | | | 2 | |
| 1× | 100 | | 20 | | 2 | | |
| 1× | 200 | | 40 | | 4 | | |

2.2.7 UHPLC-MS/MS analýza

Pro stanovení psilocinu v lidském séru byla použita metoda UHPLC-MS/MS s ionizací elektrosperem (ESI) v pozitivním módu. Data byla sbírána v režimu DMRM, charakteristiky metody jsou shrnuty v **Tab.3-5**.

Tabulka 3: Parametry LC metody pro analýzu vzorků séra

| | | | |
|---------------------|--|--------------|--------------|
| HPLC | Infinity 1290 (Agilent Technologies, USA) | | |
| Kolona | Zorbax Eclipse Plus C18, 2,1 × 50 mm, 1,8 μm (Agilent Technologies, USA), s předkolkou | | |
| Teplota | 35 °C | | |
| Nástřik | 3 μl | | |
| Oplach | Flush Port, 40 % MeOH, 5 s | | |
| Mobilní fáze | A: 10 mM HCOOH ve vodě | | |
| | B: MeOH | | |
| Průtok | 0,250 ml/min | | |
| Gradient | čas [min] | A [%] | B [%] |
| | 0 | 95 | 5 |
| | 2 | 55 | 45 |
| | 3 | 0 | 100 |
| | 4,3 | 0 | 100 |
| | 5 | 95 | 5 |
| | 7,5 | 95 | 5 |

Tabulka 4: Parametry MS detekce

| | |
|---|-------------------------------------|
| MS | QQ 6460 (Agilent Technologies, USA) |
| Ionizace | elektrosprej (ESI+) |
| Metoda | dMRM |
| Teplota zdroje | 320 °C |
| Průtok plynu (N₂) | 12 l/min |
| Nebulizer (N₂) | 50 psig |
| Teplota stínícího plynu | 400 °C |
| Průtok stínícího plynu (N₂) | 10 l/min |
| Napětí na kapiláře | 3800 V |

Tabulka 5: *dMRM metoda pro analýzu psilocinu v séru*

| Analyt | Prekurzorový ion [M+H⁺] | Produktový ion MS/MS | Retenční čas [min] | Fragmentor [V] | Kolizní energie [eV] | Akcelerátor [V] |
|---------------|---|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| psilocin | 205,1 | 160,1 132,1 115,1 | 1,9 | 77 | 17 30 45 | 4 |
| psilocin D10 | 215,2 | 164,1 117,1 | 1,9 | 70 | 17 49 | 4 |

Před samotnou analýzou musí být podmínky měření ustálené – teplota termostatu kolony, průtok a složení mobilní fáze, ustálený ESI zdroj.

Před sekvencí změříme cca tři kontrolní nástřiky 5% methanolu ve vodě (v/v), následně dva nástřiky standardu v 5% methanolu ve vodě (v/v) a opět 5% methanol ve vodě (v/v). Sekvenci začínáme měřením blanku a matriční kalibrace od nejnižší po nejvyšší koncentraci, opět zakončené blankem. Vždy po sadě deseti reálných vzorků následuje 5% methanol ve vodě (v/v), dva matriční kontrolní vzorky a opět 5% methanol ve vodě (v/v). Na konci sekvence je opět změřena celá kalibrační řada a následně je promyta kolona a převedena do methanolu. Pohyb retenčních časů analytů maximálně $\pm 2,5$ %. Poměr intenzit MRM přechodů v rozsahu ± 20 %.

Výsledky z LC-MS měření byly zpracovány v programu MassHunter (Agilent Technologies,USA) a Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, USA).

2.2.8 Identifikace a kvantifikace

Pro kvalitativní a kvantitativní analýzu byl použit program MassHunter (Agilent Technologies, USA). Ke kvantifikaci byl použit přechod 205,1->115,1 a ostatní dva přechody byly použity pro confirmaci. V programu MassHunter byl do grafu vynesena poměr ploch psilocin/psilocin D10. V případě, že se během měření kontrolní body měřené mezi reálnými vzorky a na konci sekvence výrazně liší v retenčním čase a plochách, je doporučeno celé měření opakovat. Pohyb retenčních časů analytů maximálně $\pm 2,5$ %. Poměr intenzit MRM přechodů v rozsahu ± 20 %.

2.2.9 Bezpečnost práce

Sledovaný analyt je psychoaktivní látkou, proto je nutné během manipulace se standardy dodržovat základní pravidla bezpečnosti práce. Stejně tak během práce s biologickým materiálem, lidským sérem, je nutné dodržovat pravidla bezpečnosti práce, pracovat v laboratorních rukavicích a udržovat čistotu na pracovišti. Pro práci s biologickým materiálem je naše laboratoř vybavena MSC-Advantage™ Class II Biological Safety Cabinets (ThermoFisher Scientific, USA), ve kterém se tyto vzorky zpracovávají. Odpad je následně odnášen do speciálních nádob pro biologický odpad.

2.3 Validační parametry metody

2.3.1 Lineární rozsah kalibrační řady

Kalibrační řada představuje přímou závislost odezvy detektoru na koncentraci analytu v kalibračních roztocích. Linearita je kontrolována vizuálně po vynesení bodů do grafu, případně výpočtem a vnesením residuí do grafu (kritérium $\pm 20\%$). Pro proložení bodů v grafu je použita metoda vážené regrese ($1/x$). Lineární rozsahy matričních kalibrací v případě stanovení psilocinu v séru jsou 0,2–200 ng.ml⁻¹ (jmenovitě 0,2; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 200 ng.ml⁻¹) a v případě hydrolyzy jsou 0,5–500 ng.ml⁻¹ (jmenovitě 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 250 a 500 ng.ml⁻¹).

V případě nutnosti ředění měřených vzorků je nutno připravit adekvátní kalibrační řadu, tedy ředěnou ve stejném poměru jako vzorek, a to z důvodu zamezení nadhodnocení či podhodnocení výsledků vlivem matričního efektu.

2.3.2 Limit detekce (LOD) a limit kvantifikace (LOQ)

Limit detekce je určen jako trojnásobek signálu ku šumu ($3 \times S/N$) a označuje nejnižší koncentrační hladinu, kdy je možné analyt ve vzorku detegovat, tj. splnění přítomnosti všech MRM přechodů analytu. V případě psilocinu v séru je to 0,1 ng.ml⁻¹.

Limit kvantifikace označuje nejnižší koncentrační hladina, kdy lze analyt kvantifikovat s definovanou přesností a precizností. Je stanoven ze šesti nezávislých opakování v rozmezí přesnosti 80-120% a precizností $\leq 20\%$. V našem případě se jedná o koncentrační hladinu 0,5 ng.ml⁻¹ (0,5 ng.ml⁻¹ i v případě hydrolyzy).

LOD i LOQ byly zjištěny za použití matričních kalibračních roztoků.

2.3.3 Přesnost a preciznost metody

Přesnost metody vyjadřuje míru shody naměřených výsledků a správné hodnoty výsledku. Je vyjádřena jako odchylka průměru naměřených replikátů (vzorků připravených ve více opakováních) od referenční hodnoty – $x_{lab} \times 100\% / x_{ref}$. Přesnost metody je stanovena na třech koncentračních hladinách tak, aby charakterizovala celý rozsah měření.

Preciznost metody je vyjádřena jako míra shody jednotlivých opakování a je charakterizována jako relativní směrodatná odchylka ($RSD = sm.odch.v \times 100\% / x_{průměr}$).

Data získaná během validace jsou shrnuta v **Tab.6**. Pro přípravu matričních kontrolních vzorků byla využita analytu prostá blanková matrice lidského séra obohacená standardy na potřebné hladiny, vše bylo zpracováno stejným postupem jako reálné vzorky. Ukázka chromatogramu se

všemi MRM přechody psilocinu v krevním séru na koncentrační hladině 50 ng.ml⁻¹ viz **Příloha 1**.

Tabulka 6: Preciznost a přesnost stanovení psilocinu v lidském séru

| analyt | 0,5 ng.ml ⁻¹ (n=6) | | 50 ng.ml ⁻¹ (n=5) | | 200 ng.ml ⁻¹ (n=5) | |
|----------|-------------------------------|----------|------------------------------|----------|-------------------------------|----------|
| | preciznost | přesnost | preciznost | přesnost | preciznost | přesnost |
| psilocin | 14% | 101% | 13% | 96% | 6% | 89% |

3 NOVOST METODIKY

Požívání halucinogenů, mezi které psilocybin a psilocin patří, způsobují změny ve vnímání, myšlení, emocích, dezorientaci, atd. Toto by na pracovištích či v dopravním provozu mohlo vést k závažným škodám na lidském zdraví či majetku, proto je důležité umět případnou intoxikaci prokázat. Jelikož se jedná o poměrně labilní analyty, představuje LC-MS/MS technika vhodnou metodu pro analýzu těchto analytů.

4 POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY

Samotná analýza vzorků vyžaduje sofistikovaný typ instrumentace s odborně vyškoleným personálem a pravidelné servisy finančně náročné techniky. Kromě analýzy vzorků je potřeba zajistit i adekvátní zpracování vzorků, které opět vyžaduje specifickou instrumentaci, vhodné prostory a odborně vyškolený personál.

5 SEZNAM LITERATURY

- (1) Tófoli, L. F.; de Araujo, D. B. Treating Addiction. In *International Review of Neurobiology*; Academic Press, 2016; Vol. 129, pp 157–185. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.06.005>.
- (2) Tylš, F.; Páleníček, T.; Horáček, J. Psilocybin – Summary of Knowledge and New Perspectives. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2014**, *24* (3), 342–356. <https://doi.org/10.1016/J.EURONEURO.2013.12.006>.
- (3) Kamata, T.; Nishikawa, M.; Katagi, M.; Tsuchihashi, H. Direct Detection of Serum Psilocin Glucuronide by LC/MS and LC/MS/MS: Time-Courses of Total and Free (Unconjugated) Psilocin Concentrations in Serum Specimens of a “Magic Mushroom” User. *Forensic Toxicol.* **2006**, *24* (1), 36–40. <https://doi.org/10.1007/s11419-006-0006-2>.
- (4) Hasler, F.; Bourquin, D.; Brenneisen, R.; Vollenweider, F. X. Renal Excretion Profiles of Psilocin Following Oral Administration of Psilocybin: A Controlled Study in Man. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, *30* (2), 331–339. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(02\)00278-9](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(02)00278-9).
- (5) Anastos, N.; Barnett, N. W.; Pfeffer, F. M.; Lewis, S. W. Investigation into the Temporal Stability of Aqueous Standard Solutions of Psilocin and Psilocybin Using High Performance Liquid Chromatography. *Sci. Justice* **2006**, *46* (2), 91–96. [https://doi.org/10.1016/S1355-0306\(06\)71579-9](https://doi.org/10.1016/S1355-0306(06)71579-9).
- (6) Patel, J. K.; Langenfeld, S.; Wong, E. Drugs of Abuse. In *Side Effects of Drugs Annual*; Elsevier, 2011; Vol. 33, pp 53–70. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53741-6.00004-0>.

6 SEZNAM PUBLIKACÍ PŘEDCHÁZEJÍCÍCH METODICE

Tylš, F. Elektroencefalografické změny v animálním serotonergním modelu psychózy-studium EEG konektivity mozku ve vztahu k chování. Disertační práce, 3. LF UK, 2017.

Prochazkova, L.; Lippelt, D. P.; Colzato, L. S.; Kuchar, M.; Sjoerds, Z.; Hommel, B. Exploring the effect of microdosing psychedelics on creativity in an open-label natural setting. *Psychopharmacology (Berl)* **2018**, 235 (12), 3401-34137.

7 ODKAZ NA PŘÍSLUŠNÝ PROJEKT VÝZKUMU A VÝVOJE

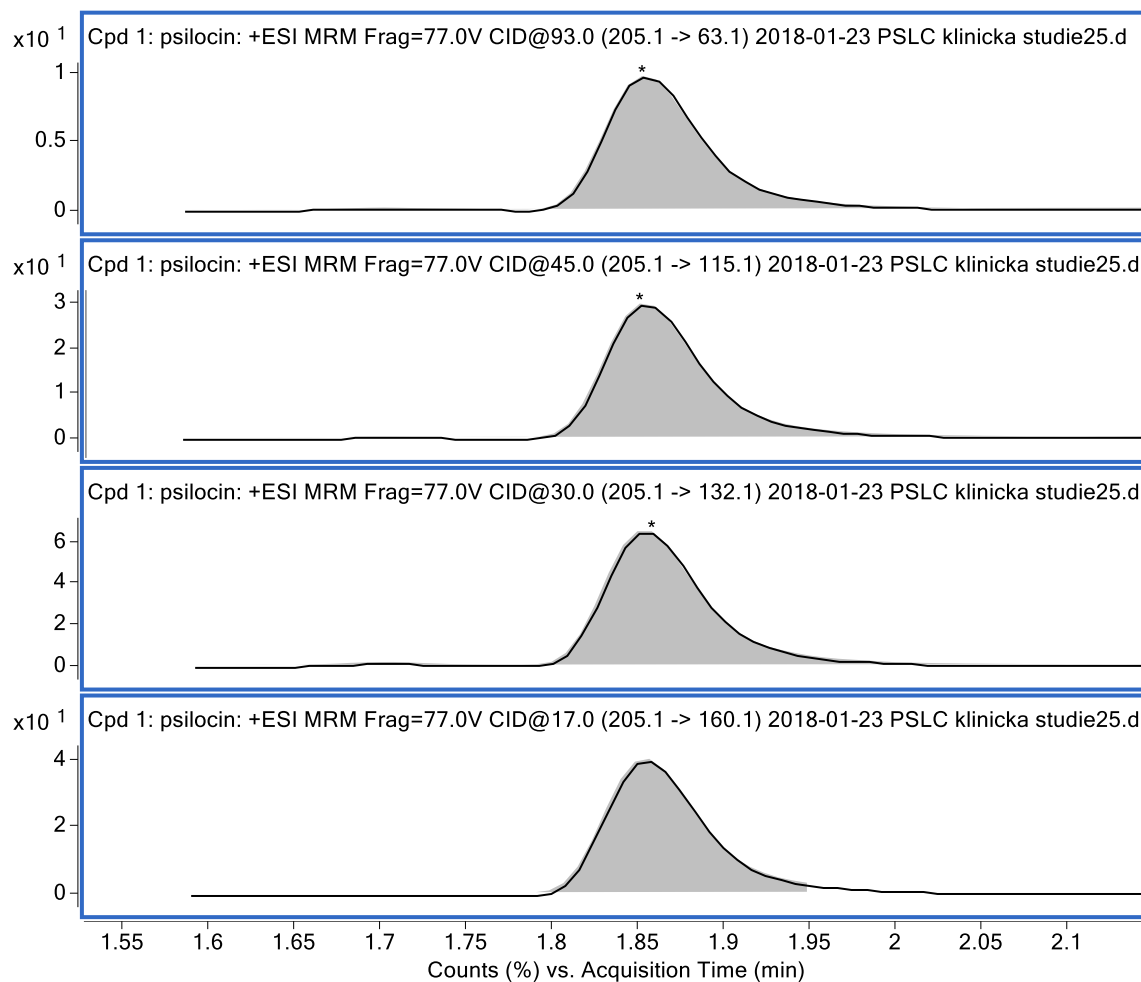
Metodika byla zpracována za finanční podpory Ministerstva vnitra České republiky v rámci řešení projektu bezpečnostního výzkumu VI20172020056: Nové syntetické drogy – komplexní mezioborové výzkumné centrum. Podpory programu NPU I Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v projektu LO1611: Sustainability for the National Institute of Mental Health a projektu OP VVV MŠMT č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007444.

8 SOUHLAS ŽADATELE S BEZPLATNÝM VYUŽITÍM METODIKY V POLICII, KTERÝ JE UDĚLEN PO PŘEDCHOZÍM PROJEDNÁNÍ S AUTOREM/AUTORY METODIKY

Žadatel vyslovuje souhlas s bezplatným používáním této metodiky v chemických laboratořích PČR a Laboratoři forenzní analýzy biologicky aktivních látek, Vysoké školy chemicko-technologické v Praze.

9 PŘÍLOHY

Příloha 1: Záznam jednotlivých přechodů psilocinu v krevním séru na koncentrační hladině 50 ng.ml⁻¹.



Příloha 2: Kalibrační křivka psilocinu v krevním séru

psilocin - 8 Levels, 7 Levels Used, 12 Points, 11 Points Used, 0 QCs

