

A kábítószerrendek változásának kihívásai a klinikai toxikológiában

Lajtai Anikó

Doktori (PhD) értekezés

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bogár Lajos
Programvezető: Prof. Dr. Miseta Attila
Témavezető: Prof. Dr. Miseta Attila



Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ,
Laboratóriumi Medicina Intézet

Pécs, 2021.

Tartalom

Rövidítések jegyzéke.....	3
Általános rövidítések.....	3
Pszichoaktív anyagok rövidítései, kémiai elnevezéseik.....	6
1. Bevezetés.....	11
1.1. Új pszichoaktív anyagok története, fogalma, általános jellemzése	11
1.2. Az új pszichoaktív anyagok kémiai szerkezete, élettani hatásai	15
1.2.1. Szintetikus katinonok	15
1.2.2. Szintetikus kannabinoid receptor agonisták (SZKRA-k).....	19
1.2.3. Szubsztituált fenetilaminok	24
1.2.4. Triptaminok.....	30
1.2.5. Egyéb új anyagok	32
1.2.6. Összefoglaló táblázat az új pszichoaktív anyagokról.....	34
1.3. Az új pszichoaktív anyagok magyarországi vonatkozásai és a jogi szabályozásokban bekövetkezett változások.....	35
2. Célkitűzések	39
3. Anyagok és módszerek.....	40
3.1. Anyagok.....	40
3.2. Módszerek	40
3.2.1. MALDI-TOF.....	40
3.2.2. FPIA	41
3.2.3. KIMS.....	42
3.2.4. HPLC- DECADE II. SCD.....	42
3.2.5. HPLC-DAD.....	44
4. Eredmények.....	46
4.1. Ismeretlen porok hatóanyagainak azonosítása	46

4.2. Új pszichoaktív anyagok keresztreakciói hagyományos kábítószerek (Amfetamin/Metamfetamin; Kannabinoidok) mérésére alkalmas immunkémiai módszerrel (FPIA).....	48
4.2.1. Különböző stimuláns típusú új pszichoaktív szerrel spike-olt vizelet minták mérése ABBOTT AxSYM® Amphetamine/Metamphetamine II. (FPIA) reagenssel	48
4.2.2. JWH-122-vel spike-olt vizelet és szérum minták mérése ABBOTT AxSYM® Cannabinoids (FPIA) reagenssel	50
4.3. A szintetikus kannabinoid receptor agonisták kimutatásának analitikai problémái ..	51
4.4. Szérum katekolamin szintek meghatározása stimuláns típusú új pszichoaktív szert fogyasztók mintáiban	54
4.5. Tárolási körülmények hatása az új pszichoaktív szerek in vitro stabilitására vizeletben	59
4.6. Stimuláns típusú hagyományos és új pszichoaktív szerek biológiai mintákban 2010 és 2019 között.....	63
4.6.1. A kimutatott új pszichoaktív stimulánsok gyakorisága.....	65
4.6.2. Az új és hagyományos pszichoaktív stimulánsok évenkénti megoszlása	66
4.6.3. A mintákban kimutatott leggyakoribb új pszichoaktív és hagyományos stimulánsok.....	67
4.6.4. Új pszichoaktív stimulánsok posztmortem mintákban.....	68
4.6.5. Új pszichoaktív stimulánsok és egyéb szerek	68
4.7. Új eredmények összefoglalása, következtetések	69
5. Megbeszélés	71
6. Publikációk jegyzéke.....	73
6.1. Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények jegyzéke.....	73
6.2. Egyéb tudományos publikációk.....	73
6.3. Előadások, posztterek	74
7. Irodalomjegyzék.....	78
8. Köszönetnyilvánítás	86

Rövidítések jegyzéke

Általános rövidítések

AMI	akut miokardiális infarktus
ÁOK	Általános Orvostudományi Kar
ATR	csillapított teljes reflexió spektroszkópia (Attenuated total reflectance spectroscopy)
AUC	csúcs alatti terület (Area Under the Curve)
BSZKI	Bűnügyi Szakértői és Kutató Intézet
Btk	Büntető Törvénykönyv
Cal.	kalibrátor
cAMP	ciklikus adenzin-monofoszfát
CB	kannabinoid
CB1R	kannabinoid receptor 1
CB2R	kannabinoid receptor 2
DA	Dopamin
DAD	Diódasoros detektor (Diode Array Detector)
DAT	Dopamin-transzporter
EC	elktrokémiai detektor (Electrochemical detector)
ED50	Effektív dózis (Effective dose): az a dózis, amely a maximális hatás 50%-át hozza létre (a szer hatáserősségét jellemző érték).
EMCDDA	Kábítószer és Kábítószerfüggőség Európai Megfigyelőközpontja (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction)
EMMI	Emberi Erőforrások Minisztériuma
ENSZ	Egyesült Nemzetek Szövetsége
EU	Európai Unió
EWS	Korai Jelzőrendszer (Early Warning System)
FLD	Fluoreszcenciás detektor (Fluorescence Detection)
FPIA	Fluoreszcens polarizációs immunoassay (Fluorescence polarization immunoassay)
FTIR	Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (Fourier-transform infrared spectroscopy)
GC	gázkromatográfia (Gas chromatography)

GC-MS	gázkromatográfiával kapcsolt tömegspektrométer
HPLC	nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography)
IS	belső standard (Internal Standard)
KIMS	az oldatban lévő mikroszemcsék közötti kinetikus kölcsönhatás (Kinetic Interaction of Microparticles in a Solution)
KK	Klinikai Központ
MALDI	mátrix által segített lézerdeszorpciós ionizáció (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization)
MAO	Monoamin-oxidáz
MCP	Multi Channel Plate
MS	tömegspektrométer (Mass spectrometry)
MS/MS	tandem tömegspektrométer
Nac	Nucleus accumbens
ND	Nem detektálható
NE	Norepinefrin
NET	Norepinefrin-transzszporter
NMDA	N-metil-D-aszpartát
NSZKK	Nemzeti Szakértői és Kutató Központ
PIHKAL	Phenethylamines I Have Known and Loved
PTE	Pécsi Tudományegyetem
qNMR	kvantitatív mágneses magrezonancia spektroszkópia (Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy)
SER	Szerotonin
SERT	Szerotonin-transzporter
SFC	Szuperkritikus fluid kromatográfia (Supercritical fluid chromatography)
SZKRA	Szintetikus kannabinoid receptor agonista
TAAR	Trace-amin kapcsolt receptor (Trace amine-associated receptor)
TIHKAL	Tryptamines I Have Known and Loved
TOF	Repülési idő analízátor (Time of Flight)
t _R	Retenciós idő
t _{RR}	Relatív retenciós idő

UNODC	Az ENSZ Kábítószer-ellenőrzési és Bűnmegelőzési Hivatala (United Nations Office on Drugs and Crime)
UPLC	Ultranagy-hatékonyságú folyadékkromatográfia (Ultra-Performance Liquid Chromatography)
VMAT	Vezikuláris monoamin transzporter (vesicular monoamine transporter)
7TMR	7-transzmembrán receptor (7-Transmembrane receptor)

Pszichoaktív anyagok rövidítései, kémiai elnevezéseik

2C-E	2,5-Dimethoxy-4-ethylphenethylamine
25B-NBOMe	4-bromo-2,5-dimethoxy-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]-benzeneethanamine
25E-NBOMe	2-(4-ethyl-2,5-dimethoxyphenyl)-N-(2-methoxybenzyl)ethan-1-amine
2C-E	2,5-Dimethoxy-4-ethylphenethylamine
2C-T-7	2,5-Dimethoxy-4-propylthiophenethylamine
2C-TFM	2,5-Dimethoxy-4-(trifluoromethyl)phenethylamine
2-MPA	1-(thiophen-2-yl)-2-methylaminopropane
3,4-CTMP	3,4-Dichloromethylphenidate
3,4-dimetoxi- α -PHP	3,4-dimethoxy- α -Pyrrolidinohexanophenone
3-CMC	3-Chloromethcathinone, 1-(3-chlorophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone
3-Fluorofenmetrazin	2-(3-fluorophenyl)-3-methylmorpholine
3-kloroefedrin	3-Chloro-1-phenyl-2-(N-methyl)aminopropane
3-MMC	3-Methylmethcathinone, 2-(methylamino)-1-(3-methylphenyl)-1-propanone
4,4'-dimetil-aminorex	4-methyl-5-(p-tolyl)-4,5-dihydrooxazol-2-amine
4-BMC	4-Bromomethcathinone, 1-(4-bromophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone
4-CDC	4-chloro-N,N-dimethylcathinone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(dimethylamino)propan-1-one
4-CEC	4-Chloroethcathinone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(ethylamino)-1-propanone
4-Cl-PPP	4'-chloro- α -Pyrrolidinopropiophenone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-propanone
4-CMC	4-Chloromethcathinone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone
4-EMC	4-Ethylmethcathinone, 1-(4-ethylphenyl)-2-(methylamino)propan-1-one

4-FA	4-Fluoroamphetamine, 1-(4-Fluorophenyl)propane-2-amine
4-FEA	4-fluoroethamphetamine, N-ethyl-4-fluoro- α -methylbenzeneethanamine
4-fluoro-PHP	4'-fluoro- α -Pyrrolidinohexanophenone, 1-(4-fluorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one
4-FMC	4-fluoromethcathinone, 1-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)propan-1-one
4F-MDMB-BICA	4-fluoro MDMB-BUTICA, methyl (S)-2-(1-(4-fluorobutyl)-1H-indole-3-carboxamido)-3,3-dimethylbutanoate
4F-pentedron	1-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)pentan-1-one
4F-PV9	4'-Fluoro- α -pyrrolidinoctanophenone, 1-(4-fluorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)octan-1-one
4-kloro- α -PVP	4'-chloro- α -Pyrrolidinovalerophenone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone
4-MA	4-methoxyamphetamine, 1-(4-methoxyphenyl)propan-2-amine
4-MC	4-methylcathinone, 2-amino-1-(4-methylphenyl)-1-propanone
4-MEC	4-Methylethcathinone, 2-(ethylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-propanone
4-metil-bufedron	2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-butanone
4-metil-N,N-DMC	2-(dimethylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-propanone
4-metil-pentedron	2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-pentanone
4-metil-TMP	4-Methylmethylphenidate, methyl (2R)-2-(4-methylphenyl)-2-[(2R)-piperidin-2-yl]acetate
5-APB	5-(2-Aminopropyl)Benzofuran, α -methyl-5-benzofuranethanamine
5-BPDI	1-(2,3-Dihydro-1H-inden-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one
5-Bromo-DMT	5-bromo-N,N-dimethyltryptamine
5-DBFPV	1-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one
5F-AKB-48	5-fluoro APINACA, N-((3s,5s,7s)-adamantan-1-yl)-1-(5-fluoropentyl)-1H-indazole-3-carboxamide
5F-CUMYL-PICA	1-(5-fluoropentyl)-N-(1-methyl-1-phenylethyl)-1H-indole-3-carboxamide
6-APB	Benzo Fury, α -methyl-6-benzofuranethanamine

AB-FUBINACA	N-[(1S)-1-(aminocarbonyl)-2-methylpropyl]-1-[(4-fluorophenyl)methyl]-1H-indazole-3-carboxamide
AB-PINACA	(S)-N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide
AH-7921	3,4-dichloro-N-[[1-(dimethylamino)cyclohexyl]methyl]-benzamide
alfa-PBP	α -Pyrrolidinobutiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-butanone
alfa-PHP	α -Pyrrolidinohexiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-hexanone
alfa-POP	PV9, alpha-pyrrolidinoctanophenone, 1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)octan-1-one
alfa-PPP	α -Pyrrolidinopropiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-propanone
alfa-PVP	α -Pyrrolidinopentiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone
alfa-PVT	α -Pyrrolidinopentiothiophenone, 2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(thiophen-2-yl)pentan-1-one
AM-2201	[1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-1-naphthalenyl-methanone
AM-694	[1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl](2-iodophenyl)-methanone
AMB-FUBINACA	MMB-FUBINACA, N-[[1-[(4-fluorophenyl)methyl]-1H-indazol-3-yl]carbonyl]-L-valine
amfetamin	1-phenylpropan-2-amine
AMT	α -methyltryptamine, α -methyl-1H-indole-3-ethanamine
AMT	α -methyl Tryptamine, α -methyl-1H-indole-3-ethanamine
BMDP	Benzylone, 3,4-methylenedioxy-N-benzylcathinone
Bromo-DragonFLY	8-bromo- α -methyl-benzo[1,2-b:4,5-b']difuran-4-ethanamine
bufedron	2-(methylamino)-1-phenyl-1-butanone
butil-hexedron	2-(butylamino)-1-phenyl-1-hexanone
CP-47947	2[(1S,3R)-3-hydroxycyclohexyl]-5-(2-methyloctan-2-yl)phenol
CP-55940	5-(1,1-dimethylheptyl)-2-[(1R,2R,5R)-5-hydroxy-2-(3-hydroxypropyl)cyclohexyl]-phenol
CUMYL-PICA	N-(1-methyl-1-phenylethyl)-1-pentyl-1H-indole-3-carboxamide
dibutilon	1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(dimethylamino)-1-butanone
dipentilon	N,N-Dimethylpentylone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(dimethylamino)-1-pentanone

DOM	2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine
eutilon	N-Ethylbutylone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(ethylamino)-1-butanone
JWH-007	(2-methyl-1-pentyl-1H-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone
JWH-018	1-naphthalenyl(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-methanone
JWH-073	(1-butyl-1H-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone
JWH-200	[1-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-1H-indol-3-yl]-1-naphthalenyl-methanone
JWH-250	1-(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-2-(2-methoxyphenyl)-ethanone
LSD	lizergsav-dietilamid
MDEA	3,4-Methylenedioxyethylamphetamine
MDMA	3,4-Methylenedioxymethamphetamine
MDMB-FUBINACA	N-[[1-[(4-fluorophenyl)methyl]-1H-indazol-3-yl]carbonyl]-3-methyl-L-valine
MDPHP	MDPHP (3',4'-Methylenedioxy- α -pyrrolidinohexiophenone)
MDPHP	3',4'-Methylenedioxy- α -pyrrolidinohexiophenone
MDPV	Methylenedioxyprovalerone, 1-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone
mefedron	4-MMC; 2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)propan-1-one
metamfetamin	N-methyl-1-phenylpropan-2-amine
metamnetamin	N-methyl-1-(naphthalen-2-yl)propan-2-amine
metil-MMDA-2	N-Methyl-2-methoxy-4,5-methylenedioxyamphetamine, N-methyl-1-(6-methoxy-1,3-benzodioxol-5-yl)propan-2-amine
metilon	3,4-methylenedioxy-N-methylcathinone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)-1-propanone
metoxetamin	MXE, 2-(ethylamino)-2-(3-methoxyphenyl)-cyclohexanone, 2-(ethylamino)-2-(3-methoxyphenyl)-cyclohexanone
mexedron	3-methoxy-2-(methylamino)-1-(p-tolyl)propan-1-one
MMMP	MMTMP, 2-methyl-4'-(methylthio)-2-Morpholinopropiophenone, 2-methyl-1-(4-(methylthio)phenyl)-2-morpholinopropan-1-one
MN-18	N-1-naphthalenyl-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide
MN-24	NNEI, N-1-naphthalenyl-1-pentyl-1H-indole-3-carboxamide

MPHP	4'-Methyl- α -pyrrolidinohexiophenone, 2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(p-tolyl)hexan-1-one
MT-45	1-cyclohexyl-4-(1,2-diphenylethyl)-piperazine
MXP	1-(1-(2-methoxyphenyl)-2-phenylethyl)piperidine
N-butyl-pentilon	1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(butylamino)-1-pentanone
N-etil-bufedron	2-(ethylamino)-1-phenylbutan-1-one
N-etil-heptedron	2-(ethylamino)-1-phenylheptan-1-one
N-etil-hexedron	N-ethylamino-Hexanophenone, 2-(ethylamino)-1-phenyl-1-hexanone
N-etil-pentedron	α -Ethylaminopentiophenone, 2-(ethylamino)-1-phenyl-1-pentanone
N-etil-pentilon	1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(ethylamino)-1-pentanone
NM-2AI	N-methyl-2-aminoindane, 2,3-dihydro-N-methyl-1H-inden-2-amine
PB-22	1-pentyl-8-quinolinyl ester-1H-indole-3-carboxylic acid
pentedron	2-(methylamino)-1-phenyl-1-pentanone
pentilon	1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)-1-pentanone
pFBT	3-(p-fluorobenzoiloxi)-tropán
PMA	para-methoxyamphetamine
PV8	alpha-PHPP, α -Pyrrolidinoheptaphenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-heptanone
RCS-8	1-(1-(2-cyclohexylethyl)-1H-indol-3-yl)-2-(2-methoxyphenyl)ethanone
STS-135	5-fluoro APICA, 1-(5-fluoropentyl)-N-tricyclo[3.3.1.1 ^{3,7}]dec-1-yl-1H-indole-3-carboxamide
THC	tetrahidrokannabinol
TH-PVP	3',4'-tetramethylene- α -Pyrrolidinovalerophenone, 2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)pentan-1-one
UR-144	(1-pentyl-1H-indol-3-yl)(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl)-methanone
WIN-55,212-2	[(3R)-2,3-dihydro-5-methyl-3-(4-morpholinylmethyl)pyrrolo[1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-6-yl]-1-naphthalenyl-methanone, monomethanesulfonate
XLR-11	5-fluoro UR-144, (1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl)(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl)methanone

1. Bevezetés

Az új pszichoaktív anyagok (designer drogok, rekreációs szerek, potpourri, herbals, bath salts, növényi tápsók, legal highs, stb.) a mefedron robbanásszerű terjedésével 2010-ben kezdték meg térhódításukat Magyarországon és számos más európai országban. Az új szerekhez való könnyű hozzáférés (internetes kereskedelem), a klasszikus kábítószerhez hasonló élettani hatásai, jóval olcsóbb árak, legális mivoltuk vezetett a kábítószer „forradalmához”. Mind a drog piac, mind a fogyasztók által preferált szerek típusa gyökeresen megváltozott; a klasszikus abúzus szerek háttérbe szorultak, helyüket a rendkívüli változatosságot mutató új anyagok vették át. 2017-re olyannyira „leegyszerűsödött” az új pszichoaktív szerek „kereskedelmi választéka”, hogy a droghasználó vagy „kristályhoz” (általában stimuláló típusú pszichoaktív szerek), vagy „herbálhoz” (általában szintetikus kannabinoid receptor agonista típusú pszichoaktív szerek) tudott hozzájutni. Sok esetben sem a diler, sem a fogyasztó nem volt/nincs tisztában az általa árult/fogyasztott szer minőségével. Természetesen ezek az átalakulások az analitikai oldalon is változásokat eredményeztek: a hagyományos kábítószer mellett a több száz új pszichoaktív anyag (és metabolitjaik) pontos azonosítása referencia anyagok hiányában igen nagy kihívást jelent ma is a klinikai és az igazságügyi toxikológiai laboratóriumok számára.

1.1. Új pszichoaktív anyagok története, fogalma, általános jellemzése

A történelem során számos olyan antropológiai leletet, vagy írott forrást találunk, ami az ember és a tudatmódosító szerek kapcsolatát bizonyítja. Az emlősökben a toxikus növényekkel való mintegy 200 millió éves kapcsolat során párhuzamosan fejlődött méregtelenítési mechanizmus és az adaptív potenciál. Az ókorban a pszichotróp növények fogyasztása legalább annyira elterjedt volt, mint napjainkban. Ilyen növény például a bételdió (*Areca catechu*), melynek fogyasztására 13000 éves archeológiai bizonyítékokat találtak (Glover, 1971., 1977.). A koka levél (*Erythroxylum coca*) használatára utalnak azok a történelem során feltárt bizonyítékok, amik a Nyugat-Andokban mintegy 7000, Ecuadorban pedig mintegy 5000 évvel ezelőttre datálódnak (Balick és Cox, 1997.). A khat (*Catha edulis*) használata már elterjedt szokás volt Etiópiában és Észak-kelet Afrikában az európai telepesek és hódítók érkezése előtt (Weir, 1985.). Az emberi 'drogkereső' magatartásnak tehát evolúciós eredete van, mely a pszichotróp növények evolúciós múltban történő hasznosításából származik (Sullivan és Hagen, 2002.). Ez a viselkedés évezredek óta, a mai napig jellemző az

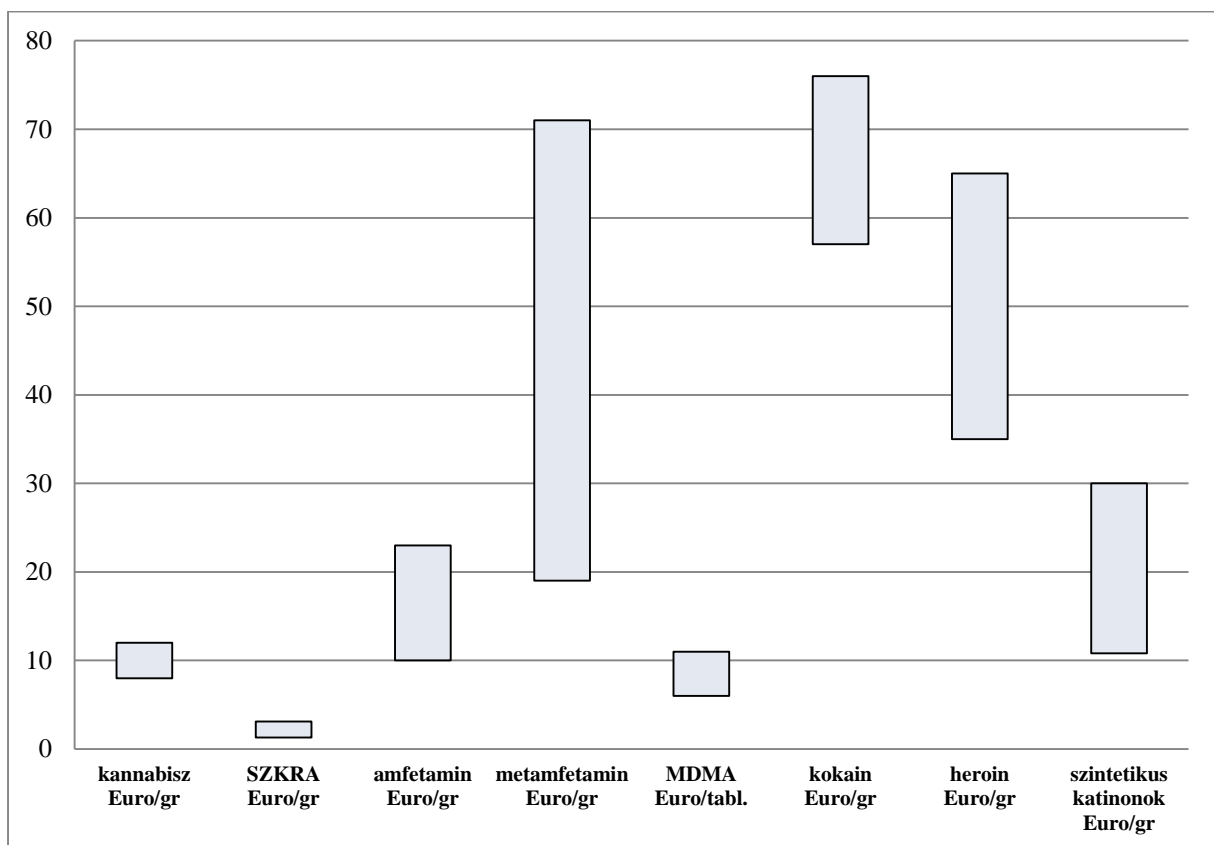
emberiségre, a kényszer az újabb és újabb tudatmódosító szerek kifejlesztésére, lehetőleg úgy, hogy annak jogi következményeivel (legalábbis egy ideig) ne kelljen számolni, röviden: legyen új és legális (bár a kettő nem különíthető el teljesen: ha valamilyen új pszichoaktív anyag kerül a piacra, az legtöbbször még nincs jogi besorolás alatt). Az új pszichoaktív anyagok megjelenése eleget tett az utóbbi két kritériumnak. Az „új” jelző arra a tényre utal, hogy ezek az anyagok újonnan jelentek meg a kábítószerpiacon vagy újonnan élnek velük vissza.

Új pszichoaktív anyagok létrehozására már a XX. század elején folytak olyan tudományos kísérletek, ahol az alapvegyület különböző funkciós csoportokkal való módosításával hasonló élettani hatású készítmények születtek (pl.: 1910: MDA (3,4 metiléndioxi-amfetamin). A szimpatomimetikumok intenzív kutatása során az amfetamin nitrogénezen metilezett származékát, a metamfetamint először az efedrin szerkezetmeghatározása során 1911-ben Nagai, illetve - tőle függetlenül - 1913-ban E. Schmidt állította elő a növényi alkaloid redukciójával (Ujvári, 2000).

A mai értelemben vett új pszichoaktív anyagok előállítására is hasonló módon történik; az alapvegyület vagy egy ismert természetes eredetű pszichostimuláns anyag (pl. *Catha edulis* „khat”) szintetikus előállítású, több helyen és módon szubsztituált változata, vagy olyan gyógyszerkutatások publikált eredményeinek „melléktermékei” (pl. JWH-, AM-vegyületek), amelyeket „szemfüles” vegyészek a nyilvánosságra hozott pszichoaktív hatás miatt, a könnyű előállítás lehetőségével élve, busás anyagi haszon reményében nagy mennyiségben kezdtek „gyártani”.

Magyarországon az új pszichoaktív anyag fogalmát a Büntető Törvénykönyv (Btk.) 184/D. § (1) bekezdése alapján az emberi alkalmazásra kerülő gyógyszerekről és egyéb, a gyógyszerpiacot szabályozó törvények módosításáról szóló 2005. évi XCV. törvény 1. § 37. pontja határozza meg. Eszerint az *„új pszichoaktív anyag: olyan, a forgalomban újonnan megjelent, gyógyászati felhasználással nem rendelkező anyag vagy vegyületcsoport, amely a központi idegrendszer működésének befolyásolása révén alkalmas a tudatállapot, a viselkedés vagy az érzékelés módosítására, megváltoztatására, és ezért hasonló mértékű fenyegetést jelenthet a közegészségügyre, mint az 1965. évi 4. törvényerejű rendelettel kihirdetett, a New Yorkban, 1961. március 30-án kelt Egységes Kábítószer Egyezmény mellékletének I. és II. Jegyzékén, az 1979. évi 25. törvényerejű rendelettel kihirdetett, a pszichotróp anyagokról szóló, Bécsben, az 1971. évi február hó 21. napján aláírt egyezmény mellékletének I. és II. Jegyzékén, vagy a 2. számú mellékletben meghatározott pszichotróp anyagok jegyzékein szereplő anyagok, és erre tekintettel azt az egészségügyért felelős miniszter rendeletében ilyen anyaggá minősítette.”*

Az új pszichokatív anyagok ipari mennyiségben történő előállítására döntően Kínában zajlik, bár Európában is folytak kísérletek a szintézisükre (pl. Hollandia, Svédország). Az európai kontinensre való szállítás után az anyagokat „termékekké” dolgozzák fel, csomagolják és értékesítik. Terjesztésük és a velük való kereskedelem elsősorban az interneten keresztül megy végbe. „Legal Highs” márkanév alatt a felszíni weben (surface web) általában a még új, jogilag szabályozatlan (legális) szerek kereskedelme zajlik, a darknet, vagy darkweb oldalakon pedig a korábban jogilag besorolt anyagokat lehet beszerezni akár saját nevük alatt, akár olyan tiltólistás szerek neve alatt, mint pl. az amfetamin, kokain, heroin (EMCDDA, 2018.). A könnyű hozzáférhetőség, a hagyományos szerekhez viszonyított olcsó ár (1. ábra, források: EMCDDA 2018., Scourfield et al., 2019. és Janíkova et al., 2016.), és a legalitás miatt az új szerek népszerűsége Európában (és világszerte) 2008 óta töretlen.



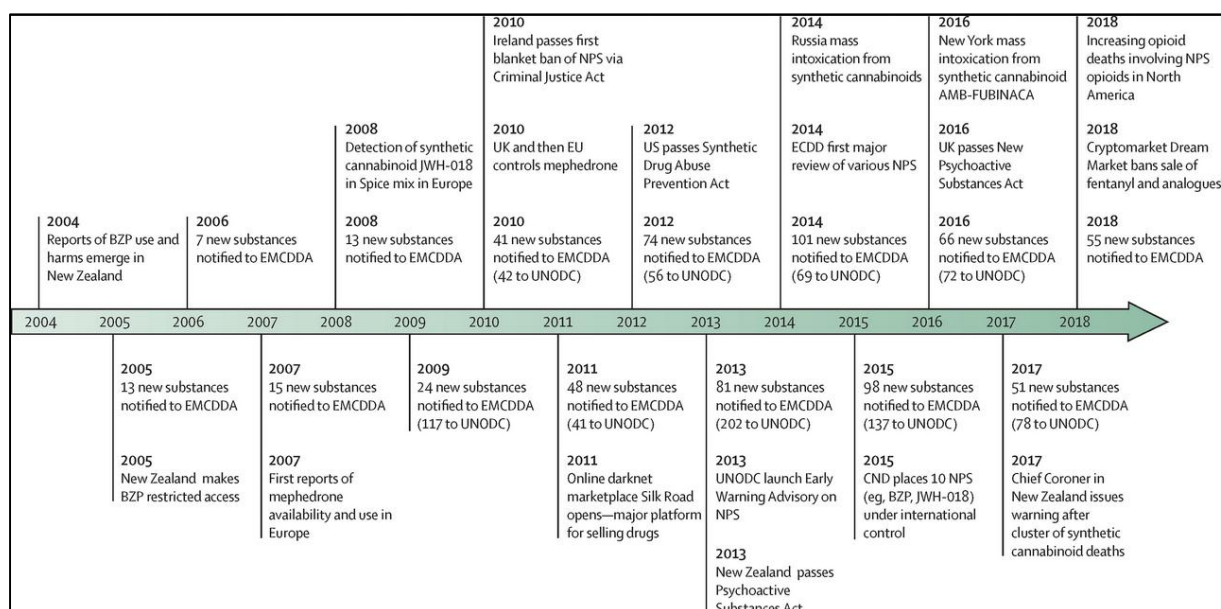
1. ábra Hagyományos kábítószeres és új pszichoaktív anyagok árai Európában

A népszerűségnek azonban ára van, számos kockázati tényezővel kell(ene) számolni a felhasználói oldalán:

- a többnyire ismeretlen hatóanyag tartalom miatt nő a túladagolás veszélye,
- ismeretlen hatás: pl. stimuláló hatás mellett nazális és vizuális hallucinációk, „flash” -ek megjelenése,

- akut és krónikus mellékhatások,
- fizikai és/vagy pszichés függőség kialakulásának lehetősége,
- tolerancia kialakulása.

Az új pszichoaktív szerek megjelenéséről, terjesztéséről, a lefoglalásokról és a kábítószerrel kapcsolatos bűnözésről nemzetközi viszonylatban az UNODC (*United Nations Office on Drugs and Crime*) honlapján nyerhetők friss információk. Európában 1993-ban alakult meg az EMCDDA (*European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*) melynek feladata, hogy megbízható, naprakész és összehasonlítható adatokat gyűjtsön az európai drogfogyasztásról, és ezzel segítse az EU és tagországainak drogpolitikáját (2. ábra, forrás: Peacock et al., 2019).



2. ábra Az új pszichoaktív szerek megjelenése szempontjából kulcsfontosságú események idővonala

A lisszaboni székhelyű központon belül 1997-ben létrejött az újonnan megjelenő és visszaélészerűen használt, illetve egészségi kockázatot jelentő pszichoaktív szereket megfigyelő *Korai Figyelmeztető Rendszer (Early Warning System, EWS)*. Az EWS egyrészt információs fókuszpontként adatokat gyűjt egy-egy új szintetikus vagy természetes eredetű drog, illetve szokatlan adalékanyag megjelenéséről, másrészt ezekről tájékoztatja az EU-tagállamokat. Az adatszolgáltatók a nemzeti drogfókuszpontok, melyek egy-egy új anyagról az adott ország igazságügyi és toxikológiai laboratóriumaitól, kórházainak sürgősségi osztályaitól, drogprevenációs szervezeteitől, valamint rendészeti és vámszerveitől kapnak jelzéseket. Hazánkban a kémiai adatok fő forrása az NSZKK (*Nemzeti Szakértői és Kutató Központ*), mely a hazai drogpiacon változásairól negyedévente tájékoztatást ad kiadvány formájában.

1.2. Az új pszichoaktív anyagok kémiai szerkezete, élettani hatásaik

Az új pszichoaktív anyagok (néhány kivételtől eltekintve) kémiai szerkezetük alapján négy nagy csoportba sorolhatók. Az igen különböző vegyületek közös jellemzője, hogy specifikus antidótumuk nincs, a terápia minden esetben a tünetek kezelését foglalja magában. A továbbiakban az egyes szubsztanciákat vegyületcsoportonként tárgyaljuk.

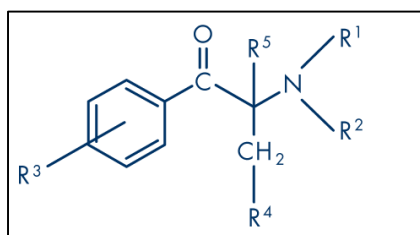
1.2.1. Szintetikus katinonok

A természetes (növényi eredetű) pszichostimuláns katinon (*Catha edulis*) félszintetikus és szintetikus változatai. Az Arab-félsziget déli részén, szinte kizárólag élvezeti célból termesztett növény a katcserje, melynek friss, leveles ágvégi hajtásainak arab elnevezése khat. A friss, két naposnál nem régebbi katlevelek bagószerű rágcsálása beszédességet, felszabadultságot, enyhe eufóriát és étvágycsökkenést okoz. A khat hatására kialakuló jellegzetes akut testi tünetek a pupillatágulás, szájszárazság és szomjúság, vérnyomás emelkedés és szapora pulzus. A rágcsálást követő napon jelentkező tünetek (álmatlanság, levertség) „kezelésére” újabb khat adagok „szükségesek”. A függőséget is kialakító drog mértéktelen fogyasztása izgatottságot, ingerlékenységet és sztereotip viselkedést okozhat. A jellegzetes élénkítő és szimpatomimetikus hatások a levelek fenil-izopropilamin alapvázú alkaloidjainak tulajdoníthatók.

Az 1929-ben Kínában szintetizált első szintetikus katinon származékot a 4-MMC-t, (4-metilmetkatinon) vagy mefedront több mint hetven év után fedezték fel újra (Hagan AO, Smith C 2017). A szer iránti érdeklődés gyorsan növekedett egyrészt a kokainhoz, amfetaminhoz, ecstasy-hoz hasonló hatása, másrészt a legalitása miatt. 2010-re addig sosem tapasztalt gyorsasággal terjedt el világszerte („Bath salts” –„fürdősó”, „Plant food” –„növényi tápszer” fantáziánéven), melynek következményeként számos haláleset köthető a mefedron használatához. Ezért az egyes országok jogalkotói illegális szerré minősítették (pl. Anglia, Írország, Franciaország, Horvátország, etc.: 2010, Magyarország 2011.) Ezt követően a számtalan szintetikus katinon előállítására tett sikeres kísérletnek köszönhetően az egyik legelterjedtebb drogfajta lett a világ számos országában, olyannyira, hogy sok esetben a hagyományos stimulánsokat háttérbe szorították. Megjelenési formájuk általában fehér, vagy barnás színű por, tabletták, kapszula vagy kristály. Fogyasztási módjaik: orális, nazális, intravénás, esetleg rectális.

Kémiai szerkezetük:

A félszintetikus és szintetikus katinon származékok esetében, az alapvázhhoz jellemzően három helyen kapcsolódhatnak további szerkezeti részek (3. ábra):



3. ábra Katinon alapváz

- a. N-alkilezett származékok, amelyek alkil- vagy halogénszubsztituenst tartalmaznak az aromás gyűrűn (1. táblázat). Ide tartozik az elsőként megjelent szintetikus katinonok nagy része.

Chemical name	Common name	Chemical structure	Molecular weight [Da]
[2-(<i>N</i> -Methylamino)-butan-1-onyl]-benzene	Buphedrone, α -methylaminobutyrophenone		177.24
[2-(<i>N</i> -Ethylamino)-propan-1-onyl]-benzene	Ethcathinone, ETCAT, <i>N</i> -ethylcathinone		177.24
[2-(<i>N</i> -Methylamino)-propan-1-onyl]-benzene	Ephedrone, methcathinone, CAT, α -methylaminopropiophenone		163.22
1-[2-(<i>N</i> -Methylamino)-propan-1-onyl]-4-fluorobenzene	Flephedrone, 4-FMC, 4-fluoromethcathinone		181.22
1-[2-(<i>N</i> -Methylamino)-propan-1-onyl]-4-methylbenzene	Mephedrone, 4-MMC, 4-methylmethcathinone		177.24
[2-(<i>N</i> -Methylamino)-pentan-1-onyl]-benzene	Pentadrone, α -methylaminovalerophenone		191.27
1-[2-(<i>N</i> -Methylamino)-propan-1-onyl]-3,4-dimethylbenzene	3,4-DMMC, 3,4-dimethylmethcathinone		191.27

1. táblázat N-alkilezett katinon származékok

- b. Metilén-dioxi szubsztituált változatok, melyek szerkezetileg igen nagy hasonlóságot mutathatnak az MDMA-val (2. táblázat).

Chemical name	Common name	Chemical structure	Molecular weight [Da]
1-[2-(<i>N</i> -Methylamino)-butan-1-onyl]-(3,4-methylenedioxy)-benzene	Butylone, bk-MBDB, β -keto-methylbenzodioxolylbutanamine		221.25
1-[2-(<i>N</i> -Ethylamino)-propan-1-onyl]-(3,4-methylenedioxy)-benzene	Ethylone, bk-MDEA, 3,4-methylenedioxy- <i>N</i> -ethylcathinone		221.25
1-[2-(<i>N</i> -Methylamino)-propan-1-onyl]-(3,4-methylenedioxy)-benzene	Methylone, bk-MDMA, 3,4-methylenedioxy- <i>N</i> -methylcathinone		207.23
1-[2-(<i>N</i> -Methylamino)-pentan-1-onyl]-(3,4-methylenedioxy)-benzene	Pentylone, bk-MBDP		235.28

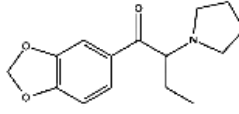
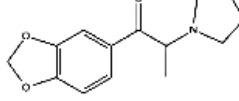
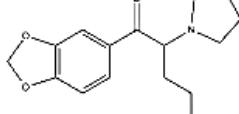
2. táblázat Metilén-dioxi szubsztituált katinon származékok

- c. N-pirrolidinil szubsztituált származékok (3. táblázat).

Chemical name	Common name	Chemical structure	Molecular weight [Da]
1-[2-(Pyrrolidin-1-yl)-hexan-1-onyl]-4-methylbenzene	MPHP, 4-methyl- α -pyrrolidinohexanophenone		259.39
1-[2-(Pyrrolidin-1-yl)-pentan-1-onyl]-benzene	α -PVP, α -pyrrolidinovalerophenone		231.33
1-[2-(Pyrrolidin-1-yl)-pentan-1-onyl]-4-methylbenzene	Pyrovalerone, 4-methyl- α -pyrrolidinovalerophenone		245.36

3. táblázat N-pirrolidinil szubsztituált katinon származékok

- d. Metilén-dioxi és N-pirrolidinil szubsztituenseket egyaránt tartalmazó származékok (4. táblázat) (Majchrzak et al., 2018).

Chemical name	Common name	Chemical structure	Molecular weight [Da]
1-[2-(Pyrrolidin-1-yl)butan-1-onyl]-3,4-methylenedioxybenzene	MDPBP, 3,4-methylenedioxy- α -pyrrolidinobutiophenone		261.32
1-[2-(Pyrrolidin-1-yl)propan-1-onyl]-3,4-methylenedioxybenzene	MDPPP, 3,4-methylenedioxy- α -pyrrolidinopropiophenone		247.29
1-[2-(Pyrrolidin-1-yl)pentan-1-onyl]-3,4-methylenedioxybenzene	MDPV, 3,4-methylenedioxyprovalerone		275.34

4. táblázat Metilén-dioxi és N-pirrolidinil szubsztituenseket egyaránt tartalmazó katinon származékok

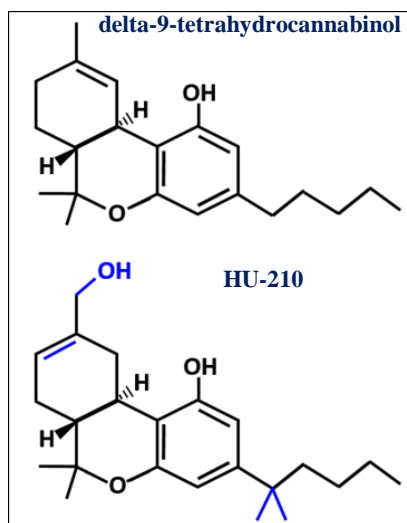
Élettani hatásai:

Hasonlóan az amfetaminokhoz, a katinonok kölcsönhatásba lépnek olyan idegsejtek plazmamembrán transzport fehérjéivel, amelyek a monoamin neurotranszmitterek, a dopamin (DA), norepinefrin (NE) és szerotonin (SER) szintéziséért felelősek (Baumann MH. et al., 2013; Eshleman AJ. et al., 2013; Simmler LD. et al., 2013). A gyűrűn szubsztituált katinonok, mint például a mefedron és a metilon, nem szelektív transzportszubsztrátok, amelyek fordított transzport útján indukálják a dopamin, norepinefrin és a szerotonin nem exocitotikus felszabadulását (azaz felszabadítók). A pirrolidin-tartalmú katinonok, például a 3,4-metiléndioxi-pirovaleron (MDPV) hatékony transzporter-gátlók (norepinefrin-transzporter: NET, dopamin-transzporter: DAT és szerotonin-transzporter: SERT), amelyek gátolják a neurotranszmitterek visszavételét (azaz blokkolók) (Baumann MH. et al., 2018). A következmény mindkét esetben az extracelluláris neurotranszmitter szintek emelkedése, ami azonban származékonként eltérő lehet, s ez magyarázhatja az eltérő hangulatmódosító hatást, toxicitást és függőségi potenciált (Capriola M., 2013.). Beszámolók szerint a szer hatása 10-20 perc után érezhető, 45-90 perc alatt éri el a maximumot és 2-3 órán keresztül tart. Ez idő alatt megnövekedett energia érzet, éberség, fokozott koncentráció, fokozott szexuális vágy, beszédesség, emelkedett hangulat, eufória, csökkent étvágy jellemző. A stimuláns hatás lecsengésével (comedown) a használók a letargia, szorongás vagy paranoia miatt sokszor éreznek sóvárgást újabb adagok bevitelére, ami könnyen függőséghez vezethet. Kifejezett intoxikáció esetén agitáció, gyanakvás, támadó magatartás, önsértések, delírium, pszichotikus tünetek: hallucinációk (főként vizuális), téveszmék jellemzőek, továbbá fejfájás, izgatottság,

álmatlanság, tachycardia, vérnyomás-emelkedés, nehézlégzés, mellkasi fájdalmak, hányinger, hasi fájdalmak, valamint görcsök is előfordulhatnak. Pszichotikus tünetek a szer elhagyását követően napokig fennállhatnak (Vardakou I. et al., 2011.; Weaver MF. et al., 2015.)

1.2.2. Szintetikus kannabinoid receptor agonisták (SZKRA-k)

Szintetikus kannabinoidok gyűjtőnév alá általában a kannabisz hatóanyagához hasonló hatásmechanizmusú szintetikus vegyületeket soroljuk. A tudomány fejlődésével, az endokannabinoid rendszer és a CB (kannabinoid) receptorok működésének megismerésével a mai napig nagy lehetőségek rejlenek olyan THC-analóg gyógyszerhatóanyag(ok) kifejlesztésében, melyek széleskörűen felhasználhatóak a farmakoterápiában (pl. epilepszia, gyulladás, neurodegeneráció, tumoros betegségek, szorongás, depresszió és osteoporosis kezelésében) (Kathryn A. Seely, 2011). Az első szintetikus kannabinoid analógot „HU-210” néven 1988-ban alkották meg Izraelben (4. ábra) (Hagan és Smith, 2017). Az új kannabinoidok orvosi alkalmazásának fő korlátai azonban a nemkívánatos pszichoaktív és fizikai mellékhatásaik (eufória, szív- és érrendszerre gyakorolt hatás, gondolkodási és mozgási zavarok, stb.).



4. ábra Δ^9 -THC és az első szintetikus analógja

A rekreációs kábítószer használók figyelmét ezekre a vegyületekre éppen ez a sajátosság hívta fel. A kutatások eredményeiről, az újonnan szintetizált kannabinoidokról sok olyan publikáció látott napvilágot, ami megfelelő forrást jelentett ahhoz, hogy „ügyeskező”, vegyészethez kicsit is értő emberek ezen anyagokat kábítószerként „hasznosítsák”.

Széles körű elterjedésük kezdete 2008-ra tehető, amikor az ún „Spice” termékek árasztották el a drogpiacon. 2016-ra 169 lefoglalásból származó új szintetikus

kannabinoidot azonosítottak. Népszerűségük elsősorban olcsó áruk miatt máig sem csökkent. A szintetikus katonok mellett a legelterjedtebb új pszichoaktív anyagok közé tartoznak.

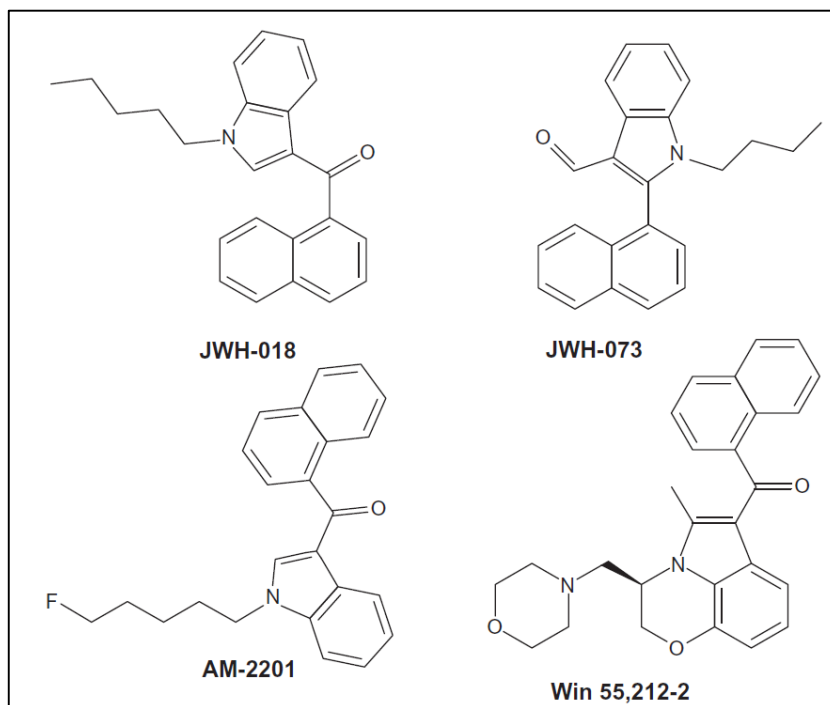
Megjelenési formájuk tiszta hatóanyagként fehér por, de fogyasztásra való előkészítésük során a szintetikus anyag (szerves oldószerben történt oldás után) különböző növényi alkotórészekre való impregnálásával érik el a „késztermék” végleges formáját, ami olyan szárított növényi törmelék, ami a fény felé fordítva enyhén csillogó felülettel bír.

A fogyasztás módja: „joint” -ként, cigaretta formájában.

Kémiai szerkezetük:

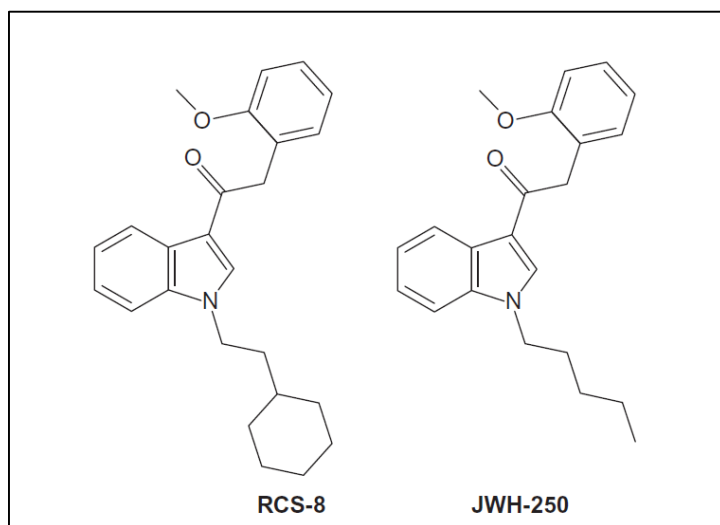
A szintetikus kannabinoid receptor aginosták (SZKRA) általában 22-26 szénatomot tartalmazó, apoláros, igen változatos összetételű vegyületek, melyek sok esetben nem rokonai az ún. „klasszikus” kannabinoidoknak, mint a dibenzopiránt tartalmazó THC-nak. Kémiai szerkezetük alapján hét csoportba sorolhatók (Davidson et al., 2017):

1. *Naftoilindolok, Naftilmetilindolok, Naftoilpirrolok, Naftilmetilindének:* JWH-007, JWH-018, JWH-073, JWH-200, JWH-398, AM-1221, AM-2201 (a JWH-018 fluoroalkil származéka), AM-694, Win-55,212-2 (5. ábra).



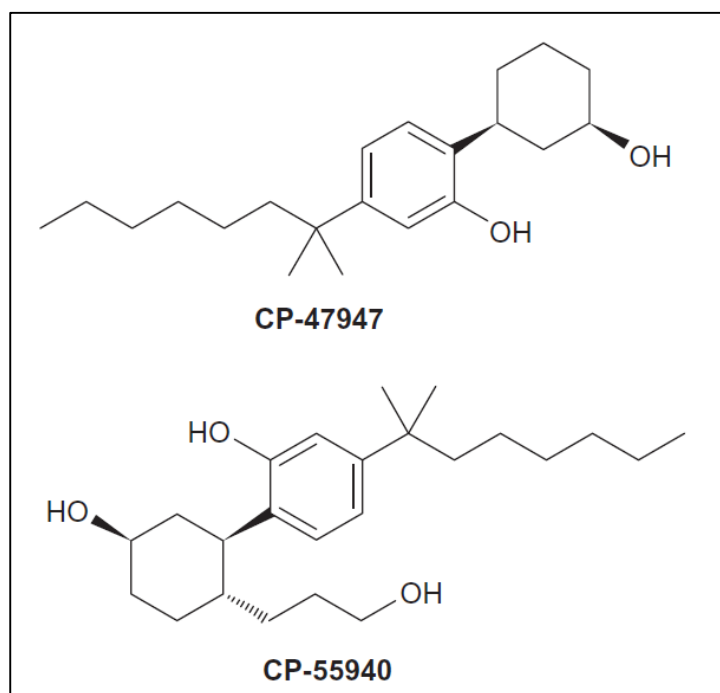
5. ábra Naftoilindolok, Naftilmetilindolok, Naftoilpirrolok, Naftilmetilindének kémiai szerkezete

2. Fenilacetilindolok (pl. benzoylindolok): JWH-250, RCS-8 (6. ábra).



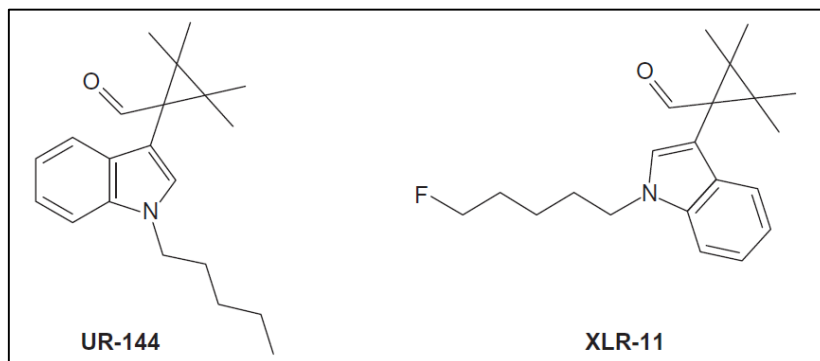
6. ábra Fenilacetilindolok kémiai szerkezete

3. Ciklohexilfenolok: CP-47947, CP-55940 (7. ábra).



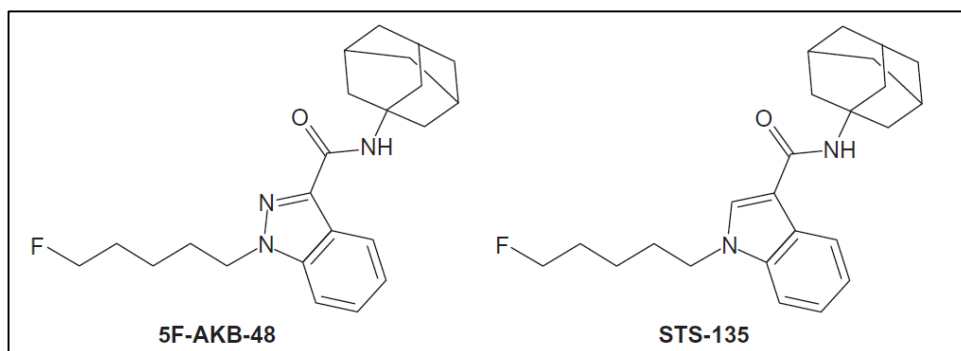
7. ábra Ciklohexilfenolok kémiai szerkezete

4. *Tetrametilciklopropilindolok*: UR-144, XLR-11 (UR-144 fluoroalkil származéka) (8. ábra).



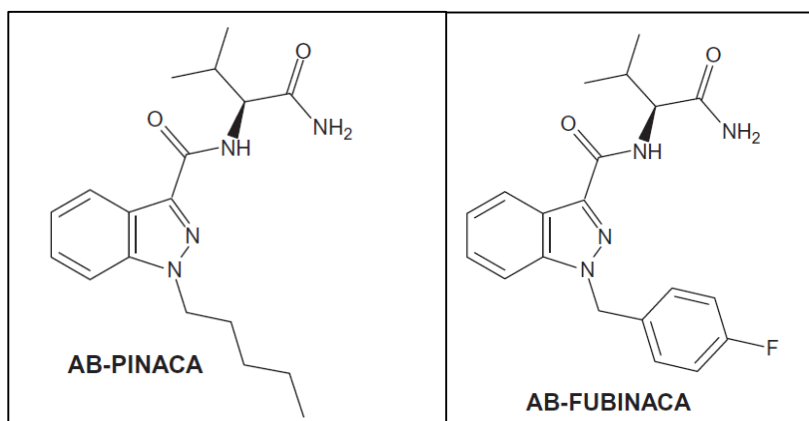
8. ábra Tetrametilciklopropilindolok kémiai szerkezete

5. *Adamantoilindolok*: 5F-AKB-48, STS-135 (9. ábra).



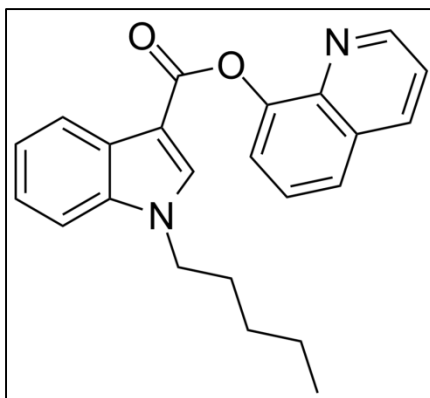
9. ábra Adamantoilindolok kémiai szerkezete

6. *Indazol karboxamidok*: AB-PINACA, AB-FUBINACA (10. ábra).



10. ábra Indazol karboxamidok kémiai szerkezete

7. *Quinolinil észter*: PB-22 (11. ábra)



11. ábra PB-22 kémiai szerkezete

Elnevezésük:

Neveikben az első két-három betű általában a feltaláló nevének rövidítése, a kötőjel utáni számok a vegyület felfedezésének kronológiai sorrendjét jelöli. **JWH** vegyületek esetében a feltaláló **John William Huffman**, a Clemson Egyetem (Egyesült Államok) emeritus professzora, aki munkássága utóbbi húsz évében több mint 450 szintetikus kannabinoid vegyületet állított elő és tesztelte azok hatását az agyban és más szervekben lévő kannabinoid receptorokon. Egyik vele készült interjúban, az orosz ruletthez hasonlította ezeket a szereket, mert „nem ismerjük a toxicitásukat, metabolizmusukat, farmakokinetikájukat.” Mélységes aggodalmát fejezte ki azokkal szemben, akik ezeket a szereket használják, de a felelősséget elhárította; ezek a vegyületek tudományos kísérletek termékei. További elnevezések:

- **AM- vegyületek:** Prof. Alexandros Makriyannis (Department of Medicinal Chemistry at Northeastern University),
- **HU- vegyületek:** Hebrew University,
- **CP-, UR- vegyületek:** gyógyszergyárok (Pfizer, Abbott) termékei.

A többi elnevezést valószínűleg az előállító laboratórium adja (pl. **STS, AKB**).

Élettani hatásai:

Ahogy a nevükben is utalást találunk rá, ezek a vegyületek a CB receptorokhoz kötődnek. Jelenlegi ismereteink szerint a CB receptoroknak két szubtypusát különíthetjük el: CB₁ és CB₂ típusokat. Mindkét receptor a 7TMR-ok (7-transzmembrán receptorok) családjába tartozik. A kannabinoidok fő pszichoaktív hatásait a CB₁ közvetíti. A CB₁ a központi idegrendszerben a legnagyobb mértékben kifejeződő 7TMR, legnagyobb sűrűséggel az agykéregben, a hippokampuszban, a bazális ganglionokban és a kisagyban mutatható ki, de jelentős

menyiségben van jelen a hipotalamuszban és a gerincvelőben is. Hatásainak legnagyobb részét G-fehérjéken keresztül hozza létre. A receptor aktív állapotban elsősorban Gi/o-fehérjéket aktivál, s ezzel számos, e fehérjékre jellemző jelátviteli útvonalat indít el. Ezek közül a legfőbb a cAMP képzés gátlása, amit valamennyi kannabinoid agonista ki tud váltani, így a CB₁ legfőbb G-fehérje-függő hatásának tekinthető (Turu és Hunyady, 2010). A CB₂ receptorok nagymértékben expresszálódnak az immunrendszerben, például a mandulákban és a lépben, míg az agyban a CB₂ receptor expressziója a mikroglialis sejtekre korlátozódik. Míg a növényi eredetű Δ⁹-THC a CB₁ és CB₂ receptorok parciális agonistái, addig a szintetikus változatok mindkét receptor teljes agonistái (Schoeder et al., 2018). Ennek bizonyítékeként állatkísérletes modellen hasonlították össze néhány SZKRA és a Δ⁹-THC ED₅₀ (Effective Dose) értékeit (5. táblázat), melynek eredménye szerint az összes vizsgált szintetikus kannabinoid szignifikánsan nagyobb hatékonysággal helyettesíti a THC-t (Gamage et al., 2018).

Vegyület	ED ₅₀ (mg/kg)	95% CI
THC	2.2	1.6–2.9
MMB-FUBINACA	0.04	0.03–0.05
MDMB-FUBINACA	0.02	0.01–0.04
MN-18	0.75	0.66–0.86
NNEI	0.55	0.40–0.77
CUMYL-PICA	0.05	0.04–0.06
5F-CUMYL-PICA	0.05	0.04–0.07

5. táblázat Néhány SZKRA és a Δ⁹-THC ED₅₀ értékei

Hatásaik a THC-hoz hasonlóak: hangulatváltozás (eufória), relaxáció, percepció változása, tachycardia, belövellt conjunctiva. A tünetek általában a belélegzést követően 10 perccel érezhetők és 2-6 órán keresztül tartanak. Túladagolás esetén agitáció, irritabilitás, álmoság, hallucinációk, téveszmék, zavartság, hypertensio, tachycardia, szédülés, hányinger, hányás, mellkasi fájdalom, de akár akut cerebrális ischemia, AMI (akut miokardiális infarktus) és akut tubuláris nekrozis is előfordulhat (Gunderson et al., 2012).

1.2.3. Szubsztituált fenetilaminok

A fenetilaminok természetes vagy szintetikus anyagok széles skáláját tartalmazzák, olyan anyagok, amelyek pszichostimuláns, entaktogén és hallucinogén hatásokkal rendelkeznek. A természetes pszichoaktív fenetilamin vegyületek „prototípusa” a peyote kaktusból (*Lophophora williamsii*) izolált meszkalin. Több metoxilezett fenetilamin vegyület a

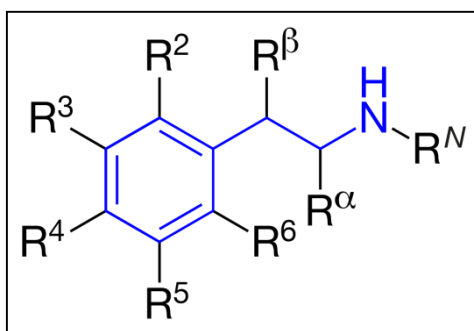
meszkalinból származtatható (pl. TMA [3,4,5-trimetoxi-amfetamin]). A fenetilaminok közé tartoznak az amfetamin típusú (pl. hagyományos: amfetamin, metamfetamin, vagy új típusú: pl. 3-FA [3-fluoroamfetamin], PMA [para-metoxi-amfetamin]) szerek, a szintetikus katinonok, csakúgy ahogy néhány endogén vegyület (pl. dopamin, adrenalin, noradrenalin) is. Ezen anyagok mellett a fenetilaminok csoportja további alcsoportokra osztható, mint pl. az MDMA-szerű vegyületek (például az MDA [3,4-metiléndioxi-amfetamin]), MDEA [3,4-metiléndioxi-etil-amfetamin], MBDB [N-metil-1- (1,3-benzodioxol-5-il)-2-butanamin]) és a legújabb generációs fenetilamin-származékok, mint például a „Bromo-dragonFLY” (1- (8-bróm-benzo [1,2-b; 4,5-b'] difuran-4-il)-2-amino-propán); az N-benzil-szubsztituált fenetilamin (NBOMe) származékok; a benzofuránok; és a „2C-osztály” molekulái, például a 2,5-dimetoxi-4-bróm-fenetil-amin (2C-B) és a 2,5-dimetoxi-4-jód-fenetil-amin (2C-I) (Schifano et al., 2016).

Az 1980-as és 1990-es években Alexander Shulgin, biokémikus és gyógyszerész számos új pszichoaktív vegyület szintéziséről számolt be. 1991-ben feleségével, Ann Shulginnal megjelentette a PIHKAL (*Phenethylamines I Have Known and Loved*) c. könyvet, melyben 179 fenetilamin derivátummal foglalkoznak, és amelyben extenzív leírást adnak munkájukról és személyes tapasztalataikról a pszichoaktív anyagok e csoportja tekintetében. Az ő nevükhöz köthető a „2C-család” előállítás vagy a DOx-család vegyületeinek megalkotása is (Shulgin és Shulgin, 1991). Ezen anyagokra vonatkozó első lefoglalási adatok 2009-ből származnak (mind Európában, mind az Egyesült Államokban).

Megjelenési formájuk általában fehér, vagy csaknem fehér por, vagy tablettá. A használat módja: orális, nazális, intravénás.

Kémiai szerkezetük:

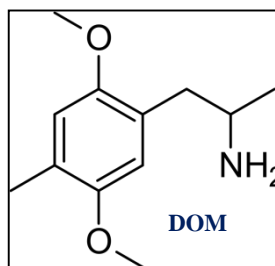
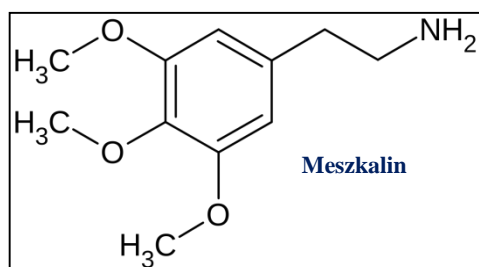
A fenetilaminok kémiai szerkezete az alapvázhoz kapcsolódó különböző szubsztituensekkel határozható meg. A kapcsolódási pontokat a 12. ábra mutatja.



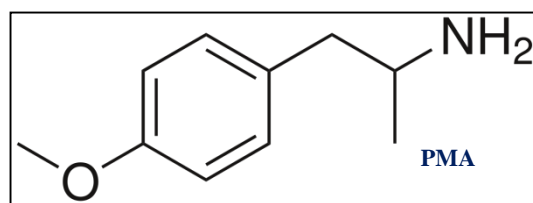
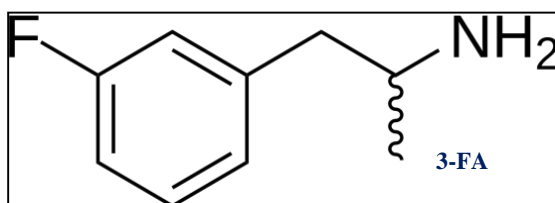
12. ábra Fenetilaminok kémiai szerkezete

Mivel igen sok vegyület tartozik ebbe a csoportba, osztályonként csak néhány példát sorolunk fel (az előzőekben ismertetett szintetikus kationokat nem részletezzük újra).

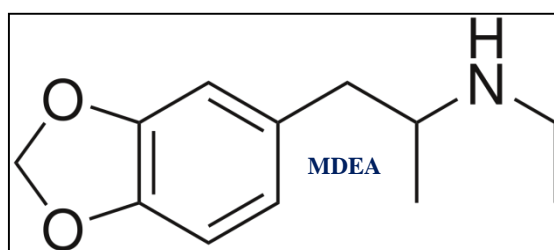
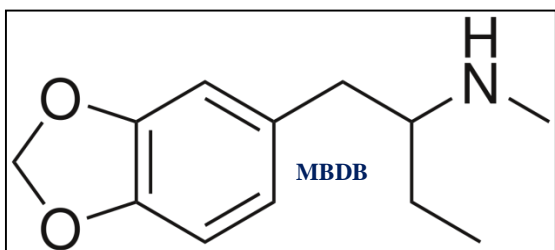
1. meszkalin típusú fenetilaminok



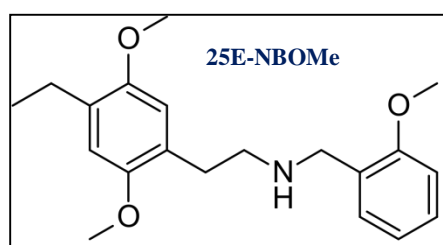
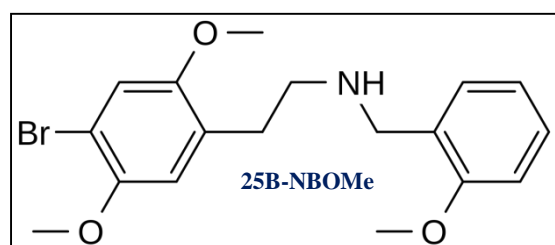
2. amfetamin típusú fenetilaminok



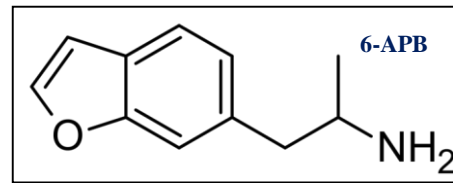
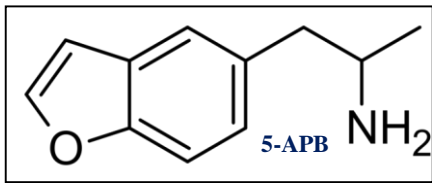
3. MDMA-szerű fenetilaminok



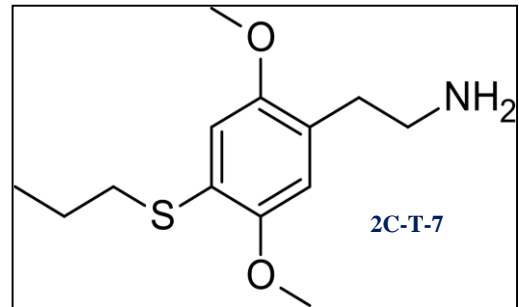
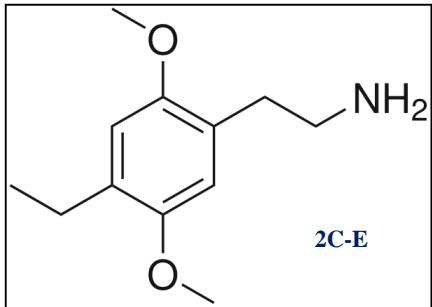
4. N-benzil-szubsztituált fenetilaminok



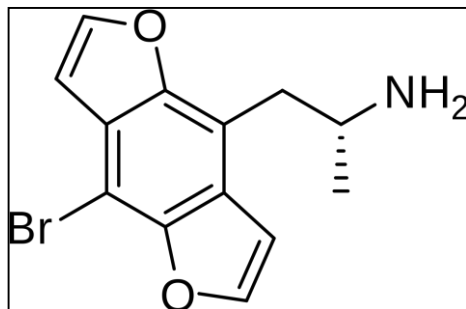
5. Benzofuránok



6. 2C osztály vegyületei



7. Bromo-dragonFLY

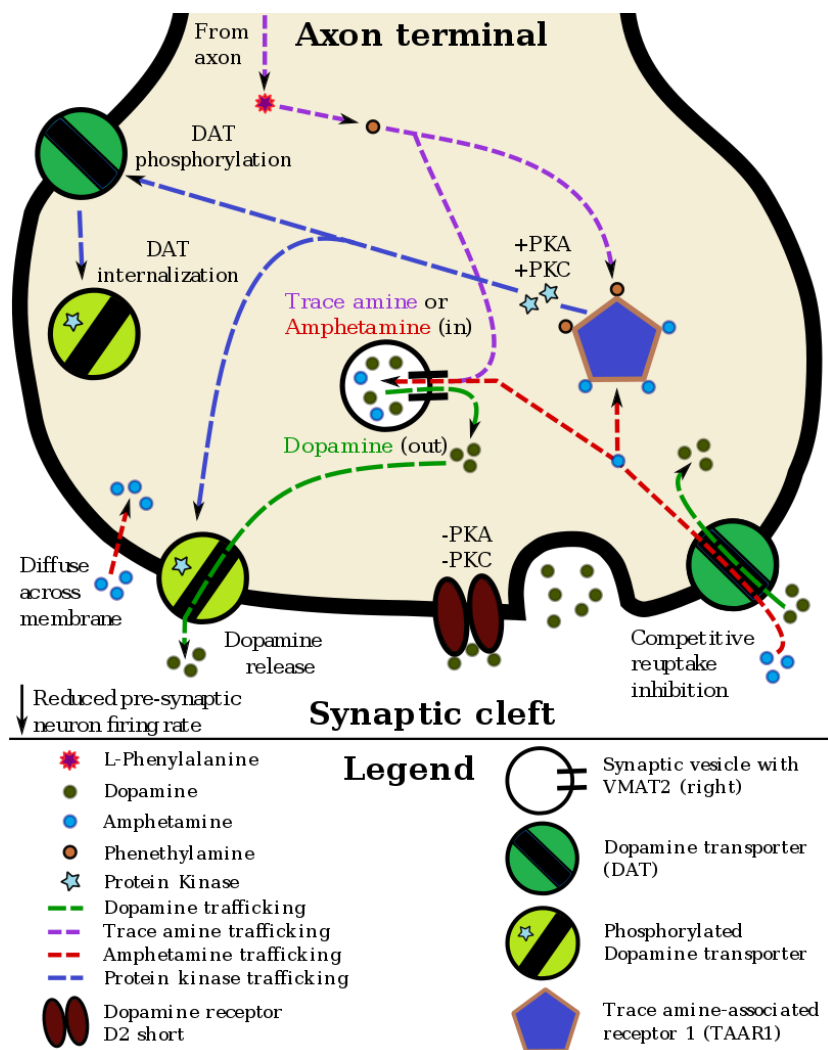


Élettani hatásai:

Az amfetaminok (hasonlóan a kokainhoz) erőteljes központi idegrendszeri stimulánsok, amelyek eufóriát, fokozott éberséget, fokozott energiát és fokozott érzelmeket okoznak. Ezeket a hatásokat a monoaminok - DA, SER és NE - megnövekedett szinaptikus koncentrációi közvetítik (Bardo, 1998; White et al., 1998). Erőteljesen addiktív hatásai annak tulajdoníthatók, hogy képesek növelni a DA szintet a nucleus accumbensben (NAc), amely a mezokortikolimbikus dopaminerg út alapvető eleme (Koob, 1992). A különböző stimulánsok különböző módon képesek növelni a monoamin szinteket. Például a kokain főként a monoamin transzporterekhez kötődik, amelyek preszinaptikus végződéseken helyezkednek el, megakadályozva a monoaminok transzporterhez való kötődését, ezzel érve el a megnövekedett DA, NE és SER szinaptikus koncentrációt (Piffl et al., 1995). Míg a kokain hasonló affinitással rendelkezik mindhárom monoamin transzporter iránt (Han et al., 2006), addig az amfetaminok elhanyagolható mértékben kötődnek a SERT-hez (Rothman et al., 2003), és ötször-kilencszer erősebben kötődnek a NET-hez, mint a DAT-hoz. Az amfetaminok ezen kívül megzavarják a monoaminok szinaptikus vezikulákban való tárolását is, mivel kölcsönhatásba lépnek a vezikuláris monoamin transzporter (VMAT-2) -vel (Partilla et al., 2006; Sulzer et al., 1990), ami a vezikuláris tartalom felszabadulását idézi elő az idegsejtek citoplazmájában.

Általánosságban a fenetilaminok hatásmechanizmusáról tehát elmondható, hogy

- 1) a TAAR-1 (trace-amin kapcsolt receptor) aktiválásával növelik a szerotonin, az adrenalin, a dopamin és a noradrenalin felszabadulását az idegsejtekből (13. ábra, forrás: Uddin et al., 2017);
- 2) megakadályozzák ugyanazon neurotranszmitterek visszavételét, aminek következményeként hosszabb ideig maradnak a neuronok (szinapszisok) közötti térben, és több idejük van arra, hogy kifejtsék hatásait;
- 3) közvetlenül stimulálják az adrenerg receptorokat;
- 4) nagy dózisban MAO (monoamin-oxidáz) gátlók.



13. ábra Az amfetamin hatásmechanizmusa egy dopaminerg neuronban

A vegyületek akut és krónikus hatásainak különbözősége neurokémiai szempontból arra vezethető vissza, hogy különbözőképp befolyásolják az egyes neurotranszmitterek központi idegrendszeri szintjét, illetve azok egymáshoz viszonyított arányát. Túladagolásuk tünetei csoportonként változók lehetnek (Schifano et al., 2016);

- *meszkalin típusú fenetilaminok:* (meszkalionhoz hasonló hatás, de 40-50x potensebb szájon át adagolva) szorongás, félelem, tachycardia, szédülés, gyengeség, hasmenés, verejtékezés, remegés, hányinger, hányás, fejfájás, pszichózis, pánik vagy paranoia, görcsök, amnézia, poszthallucinogén észlelési rendellenesség (flashback-ek), ritkán öngyilkossági gondolatok vagy cselekedetek.
- *amfetamin típusú fenetilaminok:* hipertermia, verejtékezés, hányinger, fejfájás, szédülés, bőrirritáció és vizeletürítési nehézség.

- *2C osztály*: fejfájás, dysphoria, hallucinációk, mydriasis, görcsök, súlyos agitáció és apnoe.
- *N-benzil-szubsztituált fenetilaminok*: hányinger, hányás, fejfájás, agitáció, pánik, agresszivitás, görcsök, álmatlanság, izommerevség, rhabdomyolízis, veseelégtelenség, remegés, valamint szív- és légzés leállás.
- *Benzofuránok*: szájszárazság, hányinger, fogcsikorgatás, álmatlanság, hasmenés, kipirulás, fejfájás, álmoság, pánikrohamok, szorongás, depresszió, súlyos paranoia és pszichózis. A comedown több napig is eltarthat.
- *Bromo-dragonFLY*: hosszú távú hallucinációk, paranoid gondolatok, zavartság, szorongás, görcsök, légzési problémák, máj- és veseelégtelenség.

1.2.4. *Triptaminok*

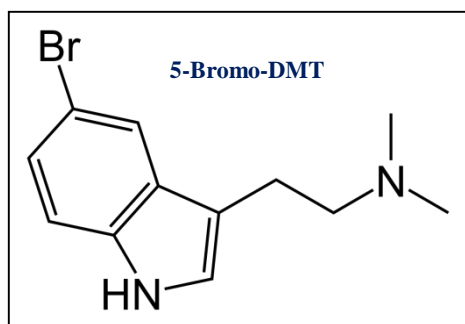
A hallucinogén típusú pszichoaktív szerek három csoportba sorolhatók: 1) fenetilaminok (pl. meszkalin és származékai), 2) lizergaminok (pl. LSD) és 3) triptaminok (pl. pszilocibin) és származékaik. A pszilocibin pszichoaktív szerként való alkalmazása különösen az 1950-es évek végén terjedt el az Egyesült Államokban, míg a szintetikus analógok csak az 1990-es években jelentek meg a tiltott piacokon.

A szintetikus változatok előállítását szintén a Shulgin házaspár nevéhez fűződik. Az 1997-ben megjelent *TIHKAL (Tryptamines I Have Known and Loved)* c. könyvükben 55 triptamin-derivátummal kapcsolatos tapasztalataikat teszik közzé (Shulgin és Shulgin, 1997).

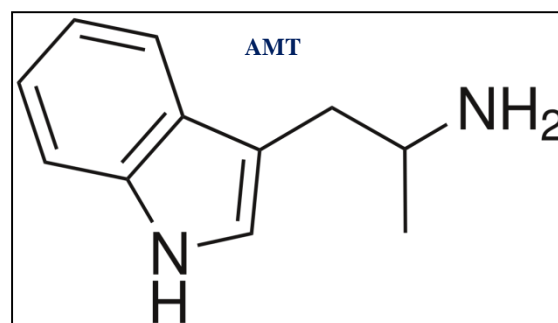
Megjelenési formájuk általában fehér por vagy tabletták, a fogyasztás módja: nazális, orális, esetleg intravénás.

Kémiai szerkezetük:

A triptaminok molekuláris szerkezete minden esetben tartalmaz egy indolgyűrűt, amely egy etil oldalláncon keresztül kapcsolódik egy amino csoporthoz. Számos természetes (a tudomány mai állása szerint, mintegy 1500 féle természetes triptamin származék létezik) növényi alkaloidot vagy állati eredetű pszichotikumot (pl. az 5-Bromo-DMT egyes szivacsfajokban [*Smenospongia aurea*, *Smenospongia echina*, *Verongula rigida*] előforduló természetes triptamin-14. ábra), valamint szintetikus triptamint (pl. Alfa-metiltriptamin-AMT-15. ábra) is új pszichoaktív szerként tartanak nyilván.

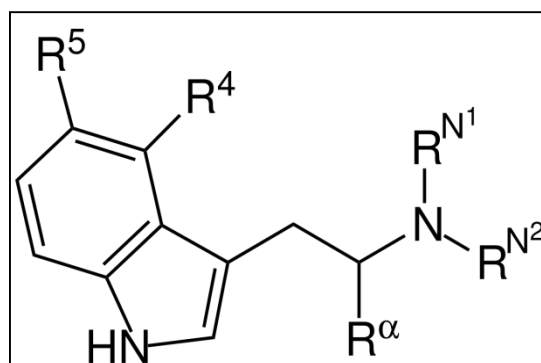


154. ábra 5-Bromo-DMT



145. ábra Alfa-metiltryptamin

A szubsztituált triptaminokban az indolgyűrűt, az oldalsó láncot és / vagy az aminocsoportot úgy módosítják, hogy egy, vagy több hidrogénatomot valamely más csoporttal helyettesítenek (16. ábra).



16. ábra Triptaminok kémiai szerkezete

Élettani hatásai:

Szerotoninhoz való nagyfokú hasonlóságuk miatt az hallucinogén tünetek kialakulásáért az 5-HT_{2A} és az 5-HT_{1A} receptorokra kifejtett agonista hatás a felelős. A fogyasztás módja elsősorban nazális, mert az orális biohasznosulást a gastrointestinalis traktusban nagy koncentrációban jelen lévő, a lebontásukért felelős monoamin-oxidáz enzimek csökkentik. Ennek következményeként az in vivo felezési idejük igen rövid. A fogyasztást követően 10-15 percen belül kialakulnak az intenzív, mozgalmas vizuális hallucinációk (nyitott és zárt szemhéj mellett is), valamint gondolat kifejezési nehézségek, illetve koncentrációs zavarok egyaránt előfordulhatnak. Általában eufória, indokolatlan nevetés, ritkán – a gyors, intenzív hatás miatt – paranoid gondolatok, pánikra való hajlam is jellemző tünet lehet. Túladagolás esetén vérnyomás emelkedés, tachycardia, rhabdomyolízis és veseelégtelenség is kialakulhat (Baumeister et al., 2015)

1.2.5. *Egyéb új anyagok*

Az előzőekben ismertetett új pszichoaktív anyagok mellett jó néhány, más vegyületcsoportba tartozó szer is a designer drogok közé sorolható. Ezeknek a részletes ismertetésétől eltekintünk, mert magyarországi elterjedésük kevésbé meghatározó.

Arilciklohexilamin vegyületek: a ketamin és a fenciklidin (PCP) szerkezeti analógjai, NMDA-receptor antagonisták, dopamin visszavétel gátlók (pl. metoxetamin). Hatásaik közé tartoznak az eufória, fokozott empátia, békés és nyugodt érzés, élénk vizuális hallucinációk, az érzékszervi élmények fokozódása, szellemi és transzcendentális élmények. Nagyobb dózisban számos nem kívánatos hatást váltanak ki; testen kívüli vagy akár halálközeli élményeket, zavaros beszédet, az idő érzékelésének torzulását, csökkent koncentrációs és összpontosítási képességet, csökkent mozgáskoordinációs képességet, szorongást, félelmet, paranoiát (Zawilska et al., 2015).

Szintetikus opioidok: az AH-7921 és MT-45 vegyületek mellett új fentanil (pl. furanyl-fentanil, metoxiacetil-fentanil, benzoil-fentanil) származékok jelentek meg az európai drogpiacon. A μ -opioid receptor nagyon erős agonistái, hatásuk a morfinéhoz hasonló, de egyes fentanil származékok akár 125-ször potensebbek lehetnek, mint a morfin (Lipiński et al., 2019).

Piperidinek: a metoxetamin tiltólistás szerré való minősítése után megjelenő NMDA-receptor antagonisták (pl. MXP, MXP2). A felhasználók az MXP hatásait euforikus, empatogén, stimuláló és disszociatív jellegűnek írták le, hosszú ideig tartó hullámzó módon, audiális és vizuális hallucinációkkal. Nem kívánt hatásai: mellkasi fájdalom, palpitáció, hipertermia, légzési nehézségek, görcsök, tartós memóriazavarok és a végtagok zsibbadása (Zawilska et al., 2015).

Aminoindán, piperazin és pipradrol származékok: „Ivory wave” fantázianéven az MDMA helyettesítését célzó szerek (akár „hamis” Ecstasy tablettákban kimutatott anyagok). Az összes anyag monoamin transzporter inhibitor, ám jelentős különbségek mutathatók ki a DAT és SERT gátlási profilok, felszabadulási tulajdonságok és receptor kölcsönhatások között (Simmler et al., 2014).

Benzodiazepinek: Az első designer benzodiazepinek, mint a diclazepam, flubromazepam és pyrazolam 2012-ben kezdtek el terjedni az online drog piacokon. 2015-ig további öt olyan új benzodiazepint (clonazolam, descloroetizolam, flubromazolam, nifoxipam és meclonazepam) regisztráltak, amelyek egyike sem rendelkezett gyógyászati célú felhasználási engedéllyel egy országban sem. Ezen vegyületek szinte mindegyikét potenciális

gyógyszerjelöltként hozták létre a gyógyszergyárak, szintézisük, valamint az alapvető állatkísérleti adatok a szakirodalomban fellelhetők. Ezeket a szereket öngyógyításként használják egyrészt a stimuláns és/vagy hallucinogén droghasználók (comedown, „upper downer cycles”), illetve azok a szorongásos betegségekben szenvedők, akik nem jutnak hozzá orvosi rendelvényhez (Moosmann et al., 2015).

Szerkezeti és kémiai hasonlóságuk ellenére nagy különbségek vannak a benzodiazepinek farmakokinetikai paramétereit és metabolikus útjai között, ezért összehasonlításuk nem egyszerű. Farmakológiai hatásai nagy része a GABA_A receptorhoz való kötődésük következménye, melynek pozitív alloszterikus modulátorai.

Fokozott aggodalomra ad okot, hogy az illegálisan hozzáférhető benzodiazepinek számos más vegyületet is tartalmazhatnak (például fentanilt, szintetikus kannabinoidekat, „Z” - szereket, barbiturátokat stb.), amik együttes használata (szupraadditív hatásai miatt) légzésdepresszióhoz és halálhoz vezethet (Manchester et al., 2018).

Szintetikus kokain származékok: a „research chemical” szerek közé tartoznak a különböző szintetikus kokain származékok is. Ezek közül 2015-ben kettőt vont szoros megfigyelés alá az EMCDDA, magas abúzus potenciáljuk miatt; 1) 3-(p-fluorobenzóiloxi)-tropán (pFBT), melynek kémiai szerkezete igen hasonló a kokainhoz, 2) dimetokain, mely a prokain (lokális anesztetikum pszichoaktív hatás nélkül) analógja. Hatásairól leginkább a felhasználók online fórumain lehet tájékozódni; helyi érzéstelenítőként hatnak, de emellett stimuláló tulajdonságokkal is rendelkeznek; a beszámolók alapján a pFBT magas vérnyomást, tachycardiát, szorongást és átmeneti pszichózist vált ki. Toxikokinetikai és toxikodinámiás tulajdonságaik nagyrészt ismeretlenek (Zanda et al., 2017).

4,4'-Dimetilaminorex: szintetikus szubsztituált oxazolin-származék, ami a monoamin-felszabadító tevékenységének köszönhetően erőteljes pszichostimuláns hatást fejt ki, és olyan súlyos mellékhatásokért tehető felelőssé, mint a hipertermia, az agyi ödéma, vérzések, szívmegállás. 2013 júniusa és 2014 júniusa között harmincegy halálesetet regisztráltak ennek a szernek a fogyasztásával kapcsolatban Európában.

1.2.6. Összefoglaló táblázat az új pszichoaktív anyagokról

Pszichoaktív hatás	Kémiai besorolás	Fő támadáspont	Intoxikáció klinikai tünetei
Depresszánsok	Designer benzodiazepinek	GABA _A	aluszékonyosság, légzésdepresszió
	Szintetikus opioidok	opioid receptorok (μ-opioid)	légzésdepresszió
	Szintetikus kannabinoidok	CB ₁ és CB ₂	hányinger, hányás, belövellt kötőhártyák, agitáció, aritmia, konvulzió
	Arilciklohexilaminok	NMDA-receptorok	hányás, nisztagmus, izomtónus fokozódás
	GHB	GABA _B	amnézia, bizarr mozgások, agitáció, konvulzió
Stimulánsok, Empatogének	Szintetikus katinonok-mefedron csoport	SER=DA, NA	alvásképtelenség, hipertermia, aritmia, konvulzió, rabdomiolízis, veseelégtelenség
	Szintetikus katinonok-pentilon csoport	DA, NA>SER	
	Szintetikus katinonok-valeron csoport	DA, NA>>>SER	
	Piperidinek	DA, NA	mellkasi fájdalom, szívdobogás, hipertermia, légzési nehézségek, görcsök
	Piperazinek	DA, NA	
	Szintetikus kokain származékok	DA>>>NA, SER	magas vérnyomás, tachycardia, szorongás, mellkasi fájdalom
	Fenilaminok	SER>>>DA, NA	hipertermia, aritmia, konvulzió, rabdomiolízis, veseelégtelenség, DIC, hiponatrémia, hipoglikémia
Aminoindánok	SER		
Hallucinogének	Fenilaminok	5-HT _{2A}	vazospazmus, hányás, hasmenés, bizarr mozgások
	Arilciklohexilaminok	NMDA-receptorok	hányás, nisztagmus, izomtónus fokozódás
	Triptaminok	5-HT _{2A} és az 5-HT _{1A}	vérfeszítés emelkedés, tachycardia, rabdomiolízis, veseelégtelenség
	Szintetikus kannabinoidok	CB ₁ és CB ₂	hányinger, hányás, belövellt kötőhártyák, agitáció, aritmia, konvulzió

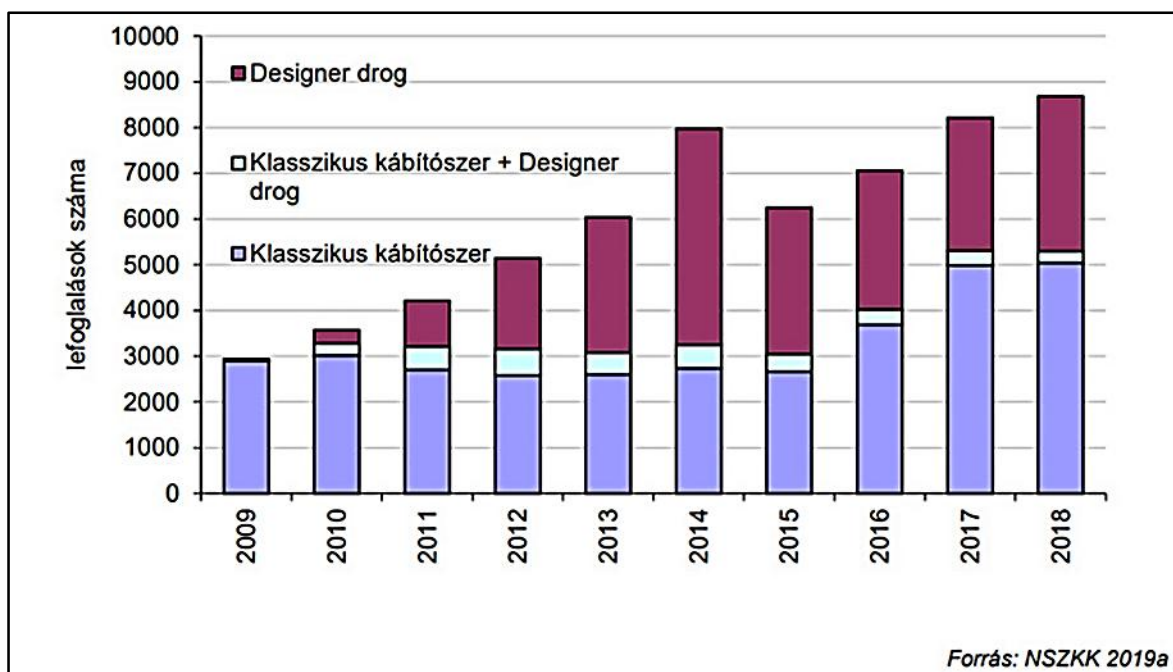
6. táblázat Összefoglaló táblázat az új pszichoaktív anyagokról

1.3. Az új pszichoaktív anyagok magyarországi vonatkozásai és a jogi szabályozásokban bekövetkezett változások

Egyes felhasználói körök 2009. második felére datálják az új szerek legelső képviselőjének, a mefedronnak a megjelenését. Régióinkban a mefedront 2010. januárban mutattuk ki először fiatal lány vizelet mintájában. Az akkor még ismeretlen, a tünetekért (intenzív osztályos terápiára volt szükség) felelőssé tehető toxikus komponenst standard hiányában csak egy héttel később tudtuk azonosítani. Baranyai viszonylatban az eset után a mefedron (később az egyéb designer szerek) rohamos terjedésére lehetett következtetni mind a klinikai, mind az igazságügyi mintákban kimutatott drogok nagy száma alapján. Ennek okai a következők voltak:

- könnyű hozzáférhetőség, anonimitás: a kereskedelem alapja az internet. Számos olyan weboldalt lehetett találni, ahonnan az új drogokat akár „sürgős” (három órán belül) kiszállítással is be lehetett szerezni;
- nincs diler: nincs személyes kapcsolat az eladó és a vevő között;
- hatás: hasonló a már ismert kábítószerhez, a különbségek kiderítése a fogyasztóknak „kaland” lehetett (hosszú távú hatás és veszélyek ismeretlenek);
- ár: jóval olcsóbbak voltak, mint a tiltott drogok;
- legális: sem a terjesztés, sem a használat nem járt büntetőjogi következményekkel.

A legális drogok megjelenése Magyarországon rendkívül gyorsan követte a nemzetközi trendeket, egy-egy szer megjelenése között hetek, legfeljebb egy-két hónap telt el. Az új pszichoaktív anyagok 2010-2014 folyamán teljesen átrendezték a magyar kábítószerpiacot. A lefoglalási adatok alapján 2013-ra az új szerek piaci részesedése meghaladta a „klasszikus” – az ENSZ Kábítószer Egyezményeinek valamely jegyzékén szereplő – szerekét Magyarországon. 2014-ben a „designer drogok” már a lefoglalt anyagok 60%-át tették ki. 2015-től azonban a trend megváltozott, az új pszichoaktív anyagok lefoglalásai a klasszikus kábítószer-lefoglalásokhoz közeli szintre estek vissza, majd utóbbiak száma meg is haladta az új szerekét (17. ábra).



17. ábra Klasszikus és designer szerek lefglalásainak száma 2009-2018 között

Az Európai Unióban alapvetően három módszer létezik az új pszichoaktív anyagok szabályozására. Az *egyedi listás szabályozás* - ami az ENSZ egyezmények alapján a legelterjedtebb - a pontosan azonosított anyagot vagy anyagcsoportot rendkívüli, vagy gyorsított módon helyezi listára. Az *generikus szabályozás* esetén az anyagcsoport (az alapképlet) és származékai is szerepelnek a listán. Az Egyesült Királyság és Írország mellett Magyarország is ezt a szabályozást alkalmazza. Az *analogon szabályozás* kémiai és / vagy biológiai hasonlóságon alapul (USA, Lettország és Norvégia) (UNODC, 2015).

Az új pszichoaktív szerek rohamos elterjedése a hazai jogalkotókat is arra készítette, hogy egy új monitorozási, kockázatértékelési rendszert dolgozzanak ki, amely alapján a megfelelő információ birtokában felelős döntés születhet a designer drogok ellenőrzéséről. A jog első válasza az új anyagok terjedésére az egyes vegyületek kábítószerlistára vétele volt. Mivel a kábítószerlistát a magyar jogban törvény formájában építették be, módosítása a parlament törvényhozási rendje szerint lehetséges. A jogalkotási folyamat általános átfutási ideje jelentősen hosszabb, mint a piaci kínálat akár egy-két hónap alatt lezajló kicserélődése. Az újabb vegyületek megjelenési ütemének gyorsulása és az egymáshoz hasonló vegyületek széles köre miatt új jogi eszközre volt szükség, hogy korlátozni lehessen a nem ismert egészségügyi és szociális kockázatokat jelentő designer drogok szabad terjedését. Szakmai konszenzus alapján az új pszichoaktív anyagok ellenőrzésére megalkotott jogszabály egyszerre alkalmazza az egyedi listás és az generikus (kémiai szerkezeten alapuló csoportosítási) megközelítést azzal a céllal, hogy megelőzze, visszaszorítsa a még „forgalomba” nem került, azonban

szerkezetében és ezáltal várhatóan hatásában is hasonló vegyületek hazai megjelenését és terjedését. A szabályozás generikus leírásainak első verziója az addig az európai piacon megjelent és a tudományos szakirodalomban hatásos vegyületként publikált szintetikus kannabinoidok, katinonok, fenetilaminok és triptaminok szerkezeteit fedte le (kiegészítve néhány más vegyületcsoportba tartozó -egyedi- szerrel). A kémiai leírások kialakításakor külön figyelmet fordítottak arra, hogy a legális gyógyászati felhasználással rendelkező vegyületeket ez a szabályozás ne érintse. (Megjegyzendő, hogy a generikus leírásnak megfelelő szerkezetű, de a kábítószer listán szereplő vegyületek sem minősülnek jogi értelemben új pszichoaktív anyagnak.)

Fordulópontok a magyar jogrendben a designer szereket tekintve:

- 2011. január - Mefedron tiltólistán.
- 2012. január - további kilenc designer drog tiltólistára vétele.
- 2012. április - az ún. „C” jegyzék megjelenése: generikus szabályozás.
- 2013. július - új, minden eddiginél szigorúbb Btk.

2015. óta a „C” jegyzék elemeit külön jogszabály (55/2014. EMMI rendelet) tartalmazza.

Az új szabályozás négy jogszabályon nyugszik:

- 2005. évi XCV. törvény az emberi alkalmazásra kerülő gyógyszerekről és egyéb, a gyógyszerpiacot szabályozó törvények módosításáról (a törvény új pszichoaktív szereket érintő módosítása 2012. március 1-én lépett hatályba);
- 66/2012. Korm. rendelet a kábítószerekkel és pszichotróp anyagokkal, valamint az új pszichoaktív anyagokkal végezhető tevékenységekről, valamint ezen anyagok jegyzékre vételéről és jegyzékeinek módosításáról (2012. április 3.);
- 55/2014. EMMI rendelet az új pszichoaktív anyaggá minősített anyagokról vagy vegyületcsoportokról (2015. január 1.);
- A Büntető törvénykönyv 184.§, 184/A-D.§ „Új Pszichoaktív anyaggal visszaélés” című szakasza (2013. július 1.)

Általánosságban elmondható, hogy a jogszabályok változása kihatott mind az internetes kereskedelemre (csökkent a legálisan árusítható drogok mennyisége, ezzel együtt a terjesztéssel „foglalkozó” weboldalak száma is), mind pedig a fogyasztási szokásokra, mert a különböző anyagok „piaci jelenléte” (és ezzel együtt a fogyasztási szokások) nagy mértékben függ azok jogi besorolásától; amennyiben egy szer tiltólistára kerül, rövid időn belül eltűnik a drogpalettáról.

A jogi szigorítások ellenére hazánkban jó néhány, akár halálos kimenetelű mérgezés köthető az új pszichoaktív szerekhez:

- 2013. július-augusztusban 8 halálos áldozatot követelt egy szintetikus szubsztituált oxazolin-származék, a „Serotoni” (4,4'-dimetilaminorex) fogyasztása;
- 2015-ben a „Facebook” tableta miatt intenzív osztályos kezelésre szorult több fogyasztó. Az „Extasy” -ként (MDMA) árult drog feltehetően egy kiserelési anomália miatt SZKRA hatóanyagot tartalmazott;
- 2020-ban a „Bika” fantázianevű (4F-MDMB-BICA) szintetikus kannabinoid receptor agonistához 23 haláleset (1 baranyai) kapcsolható.

2. Célkitűzések

Mindamellet, hogy az új pszichoaktív szerek potenciális veszélyt jelentenek a fogyasztókra nézve, az analitikai oldalon számos kihívással kell/ett szembesülnünk az évek során. Az értekezés célja, a felmerülő problémák és megoldásaik, valamint az új anyagokkal történt kutatások bemutatása, úgy, mint:

1. gyári standardok hiányából adódó nehézségek,
2. immunkémiai tesztek keresztreakciói az új szerekkel,
3. szintetikus kannabinoidok kimutatásának dilemmái,
4. szérum katekolamin szintek mérése új pszichoaktív szert fogyasztók körében,
5. tárolási körülmények hatása az új pszichoaktív szerek in vitro stabilitására vizeletben.

3. *Anyagok és módszerek*

3.1. *Anyagok*

2010-2019 között a PTE KK Laboratóriumi Medicina Intézetébe toxikológiai vizsgálatra érkezett biológiai minták, porok, tabletták, folyadékok, növényi törmelékek (n=11857). Az esetek a beküldő szerint két nagy csoportra oszthatók:

1. Klinikai minták ($n_K=7253$)
2. Igazságügyi minták ($n_I=4604$).

3.2. *Módszerek*

3.2.1. *MALDI-TOF*

Ismeretlen porokban lévő hatóanyagok (későbbiekben standardként való alkalmazás céljából történő) azonosítására MALDI-TOF Autoflex (Bruker) tömegspektrométert használtunk. A tömegspektrometria az anyag tanulmányozására alkalmas technológia, amely gáz halmazállapotú ionok képződésén alapul, és ezek tömeg és töltés szerinti szétválasztását, detektálását és jellemzését teszi lehetővé (Murray et al., 2013). A mátrix közvetítésével végzett lézer deszorpciós ionizáció (Matrix-assisted laser desorption/ionization - MALDI) során a jól szabályozható lézerforrásból származó gerjesztő energiát egy mátrix veszi fel és közvetíti a vizsgálandó molekulák felé. Az ionforrásban impulzusszerűen előállított ionok az U gyorsítófeszültség hatására belépnek az erőtermentes repülési csőbe (Time of Flight – TOF - analizátor), ahol fajlagos tömegük alapján elkülönülnek. Az egyes ionok számával arányos intenzitású jelet Multi Channel Plate (MCP) detektor szolgáltatja. A minták előkészítését az egyes anyagokra vonatkozóan az 7. táblázat tartalmazza. (A növényi törmelék esetében a hatóanyag kinyerésére diklór-metánt és etil-acetátot használtunk; 50 mg növényi törmelékhez 5 ml oldószert adtunk, amit bepárlást követően 100 μ l metanolban oldottuk vissza. Ezt követően 50x-es hígítást végeztünk metanol:H₂O 1:1 arányú elegyével. A hatóanyag tömegének - $M_{AM-2201} = 359$ g/mol- meghatározása mindkét oldószer esetében sikeresnek bizonyult, $M = 360$ g/mol.)

Név	Oldószer	Koncentráció	Mátrix
Mefedron (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	2,5-dihidroxi-benzoészav
MDPV (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	2,5-dihidroxi-benzoészav
4-FMC (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	2,5-dihidroxi-benzoészav
4-MEC (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	2,5-dihidroxi-benzoészav
4-FA (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	2,5-dihidroxi-benzoészav
Metoxetamin (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	mustársav
5-ABP (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	2,5-dihidroxi-benzoészav
Pentedron (por)	metanol: H ₂ O 1:1	1 mg/ml	2,5-dihidroxi-benzoészav
JWH-122 (por)	aceton	1 mg/ml	mustársav
AM-2201 (növényi törmelék)	metanol: H ₂ O 1:1	-	2,5-dihidroxi-benzoészav

7. táblázat Minta előkészítés az egyes anyagokra vonatkozóan

3.2.2. FPIA

A keresztreakciók vizsgálatához immunkémiai módszert alkalmaztunk. A fluoreszcens polarizációs immunoassay (FPIA) méréseket ABBOTT AxSYM[®] immunkémiai analizátorral végeztük. A módszer egy kompetitív kötési reakción alapul a kimutatandó szer, a tracer (fluoreszcein anyaggal jelölt szer) és az antitest között. A fluoreszcenciát előidéző síkban polarizált fény intenzitása az oldatban lévő részecskék forgási sebességétől függ. A forgási sebesség pedig a részecskék méretének a függvénye. Ha a tracer (kisméretű fluorofór) kötődik az antitesthez (makromolekula), akkor a tracer mozgási szabadsága jelentősen csökken és következményesen a fluoreszcencia polarizáció értéke megnő. A kompetitív FPIA esszék esetében a mérendő anyag gátolja a tracer kötődését, ami a polarizáció csökkenéséhez vezet, mivel több fluorofór lesz jelen szabad formában.

Minta előkészítés:

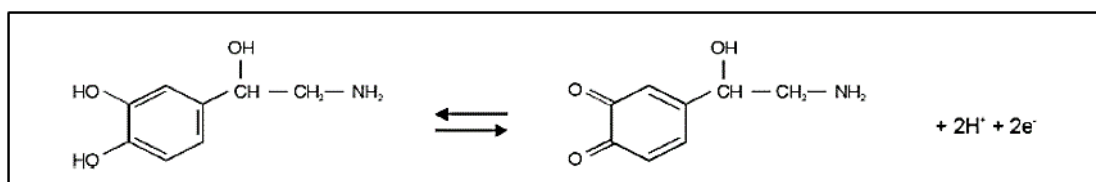
1mg/ml-es koncentrációjú törzsoldatokat készítettünk az adott szerekkel, az oldószer a Shimadzu Prominence TOX.I.S. HPLC-DAD rendszer egyik eluenseként használt 0,01M pH 6,0 foszfát-puffer (kivéve a JWH-122-t, ahol metanol) volt. A törzsoldatot vizelettel történő különböző arányú hígítás („spike” -olás) után mértük (a hígítási sort lásd az Eredmények fejezetben).

3.2.3. KIMS

Benzodiazepinek, valamint a THC és metabolitjainak vizeletből történő kimutatására szemikvantitatív immunkémiai módszert alkalmaztunk. A mérések kivitelezése Cobas® Integra 400 Plus készüléken történt. A vizsgálati eljárás az oldatban lévő mikroszemcsék közötti kinetikus kölcsönhatáson (Kinetic Interaction of Microparticles in a Solution - KIMS) alapul, ami a fényáteresztés változásával mérhető. Amennyiben a minta nem tartalmazza a kérdéses szert, az oldott szerkonjugátumok az antitest által megkötött mikroszemcsékhez kötődnek, szemcseaggregátumokat képezve. Minél kevesebb szer van a mintában, annál jobban kifejlődik az aggregációs folyamat és nő az abszorbancia. Az abszorbancia-növekedés a mintában lévő szer koncentrációjával egyenes arányban csökken.

3.2.4. HPLC- DECADE II. SCD

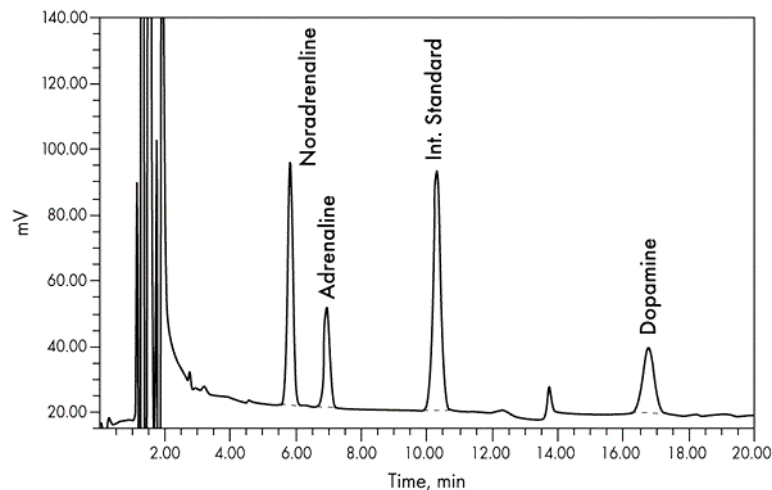
Katekolaminok sérumból történő meghatározásához Shimadzu Prominence HPLC-t alkalmaztunk, a készülék alegységei a következők: vezérlőegység (CBM-20A), gáztalanító egység (DGU-20A5R), pumparendszer izokratikus elválasztáshoz (LC-20AD), kolonna termosztát (CTO-20A), manuális injektor (Rheodyne 7725i) 20 µl-es loop-pal. A detektálás DECADE II. SCD (Antec Scientific-Hollandia) elektrokémiai detektorral (EC) történt. A vezérlés Shimadzu LC Solution szoftver (verziószám 1.21) segítségével történt. A mérések kivitelezéséhez a CHROMSYSTEMS „Catecholamines in Plasma” (Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH, Németország) plazma katekolamin koncentráció meghatározására gyártott HPLC-EC kitet használtuk. Az elektrokémiai detektálás során elektronátmenet zajlik le az elektródokon, ezért csak olyan vegyületek kimutatására alkalmazhatóak, amelyek ún. „elektroaktív” csoportot tartalmaznak. Ezek a csoportok könnyen oxidálhatóak, illetve redukálhatóak, ezért alkalmas a módszer az adrenalin, noradrenalin és a dopamin kimutatására (18. ábra).



18. ábra Noradrenalin redukcója és oxidációja

A mintákat a felhasználásig -20°C-on tároltuk. Minden mérés alkalmával liofilizált normál, vagy patológiás kontrollt („Endocrine Plasma Control, normal range/ pathological range” -

Chromsystems) mértünk. A mintaelőkészítés a gyártó által előírt módon történt, szilárd fázisú extrakcióval („*sample clean up cartridge*”). Az áramlási sebesség 1,1 ml/perc, a cellafeszültség 0,7 V, az izokratikus elválasztás ideje egy minta esetén 18 perc volt (<https://www.chromsystems.com/products/biogenic-amines-all/catecholamines-in-plasma-hplc-5000.html>). A katekolaminok azonosítása a retenciós idő alapján történt, melynek megállapításához minden esetben kalibrátor (Cal.) futtatása volt szükséges (19. ábra).



19. ábra Katekolaminok kalibrátorának kromatogramja

Az egyes analitok koncentrációit az alábbi képlet segítségével tudtuk kiszámolni:

$$C_{\text{analizált minta}} = \frac{A_{\text{minta}} \times IS_{\text{Cal.}}}{A_{\text{Cal.}} \times IS_{\text{minta}}} \times C_{\text{Cal.}}$$

ahol:

- A_{minta} : a minta kromatogramján az analit csúcs alatti területe
- $A_{\text{Cal.}}$: a kalibrátor kromatogramján az analit csúcs alatti területe
- IS_{minta} : a minta kromatogramján a belső standard csúcs alatti területe
- $IS_{\text{Cal.}}$: kalibrátor kromatogramján a belső standard csúcs alatti területe
- $C_{\text{Cal.}}$: a kalibrátor egyes analitokra vonatkozó koncentrációi, amik a következők voltak:
 - Noradrenalin: 600 ng/ml,
 - Adrenalin: 300 ng/ml,
 - Dopamin: 300 ng/ml.

3.2.5. HPLC-DAD

A hagyományos kábítószerek és az új pszichoaktív anyagok kvalitatív és vizeletből történő kvantitatív kimutatására Shimadzu Prominence TOX.I.S., majd egy upgrade-et követően (2013-tól) TOX.I.S. II. HPLC-DAD rendszert használtunk. A készülék a következő alegységekből tevődik össze (TOX.I.S. II.): vezérlő egység (CBM-20A), hármas pumparendszer (LC-20 AB), gáztalanító egység (DGU-20 A), manuális injektor (Rheodyne 7725i) 1000 µl-es loop-pal, kolonna termosztát (CTO-20 AC), grádiens egység (FCV-20 AH), négy darab áramláváltó szelep (FCV-12 AHx2; FCV-14 AHx2) és a diódasoros detektor (DAD) (SPD-M20 A) (Shimadzu, Duisburg, Németország). A 205 és 230 nm hullámhosszakon mért extinkciókat használjuk a csúcsok detektálásához. A vezérlés Shimadzu LC Solution szoftver (verziószám 1.21) segítségével történik. Az előtét kolonnát (Strata-X on-line extraction cartridge) és az analitikai oszlopot (Gemini-NX 3u C18 110A, 5µm) beszállítója a Phenomenex Inc. (Aschaffenburg, Németország). A mozgó fázis áramlási sebessége 1 ml/perc. A 40°C-os kolonnatérben a komponensek grádiens elválasztása a következő eluensekkel történik: a mintatovábbításhoz 0,01M foszfát-puffert (pH = 9,0) használunk, az első mosási lépés acetonitril:víz (90:10, v/v) elegyével, míg a második 0,05 M foszfát-pufferrel (pH = 2,3) történik. A mozgó fázis az utóbbi két eluens 15/85 térfogat-százalékos elegye. A detektált anyagok azonosítása a retenciós idő (RT és relatív retenció: RRT) valamint az UV-spektrum alapján történik, a készülék könyvtárában tárolt standard anyagok összehasonlításával. Belső standardként (IS) N-etil-oxazepamot alkalmaztunk (Pharmaceuticals in Urine-Internal standard; ClinRep®, RECIPE, München, Németország). Módszerünk segítségével mintegy 3200 féle bázikus és semleges toxikus komponens (anyavegyület és metabolitok) kimutatására van lehetőség. Egy minta futási ideje 46,7 perc.

A mintaelőkészítés a minták fajtaiként különbözőek:

- vizelet: 1,5 ml-es Eppendorf csőbe (Eppendorf Tube®) 100 µl vizeletet pipetázunk, majd 500 µl vizet, 250 µl 0,01 M pH: 6/9 (TOX.I.S./TOX.I.S.II.) foszfát puffert és 250 µl belső standardot adunk hozzá. 10000 x g-n (4 perc) történt centrifugálás után a mintát a készülékbe injektáljuk.
- szérum: 1,5 ml-es Eppendorf csőbe (Eppendorf Tube®) 200 µl szérumot pipetázunk, ehhez 300 µl acetonban oldott N-etil-oxazepamot (2 µg/ml) adunk. 10000 x g-n történt centrifugálás után a felülúszóból 300 µl-t pipetázunk 1000 µl 0,01 M pH: 9 foszfát pufferbe, majd a mintát a készülékbe injektáljuk.

- teljes vér (poszt mortem): 1,5 ml-es Eppendorf csőbe (Eppendorf Tube®) 500 µl teljes vérhez 500 µl acetonitrilt pipettázunk, vortexelés és centrifugálás (10000 x g) után a felülúszóból 500 µl-t leszívunk, ehhez 500 µl vizet adunk. Vortexelés után 1g Na₂SO₄ (40%, w/v) hozzáadása után ismételt vortexelés és centrifugálás következik. A felülúszóból 175 µl leszívunk, a továbbiakban úgy készítjük elő a mintát, ahogy a vizeletnél.
- porok, tabletták: 1/10 µg/ml-es oldat (oldószer általában metanol: víz 1:1 arányú elegye) készítettünk, a további mintaelőkészítés a vizeletnél alkalmazott eljárás szerint.
- folyadékok: sűrűségtől függően 100-1000-10000-100000x-es hígítás 0,01 M pH: 6/9 (TOX.I.S./TOX.I.S.II.) foszfát pufferrel, majd vizeletként történő mintaelőkészítés.
- növényi törmelék, cigaretta dohány: 1 mg anyagot 1ml metanolban áztattunk, többször vortexeltük, az ezt követő centrifugálás (10000 x g) után a felülúszót száz-/ezerszeresre hígítottuk, majd úgy készítettük elő, mint a vizeletet.
- további poszt mortem minták: a szövet extraktumokat (máj, epe, gyomor, izom) a PTE ÁOK Igazságügyi Orvostani Intézet toxikológiai laboratóriumában készítették elő, a kivonatokból 175 µl leszívása után a vizeletnél alkalmazott mintaelőkészítést végeztük el.

A minták előkészítéséhez minden esetben HPLC tisztaságú oldatokat használtunk. A kromatográfias vizsgálatoknál nem megszokott, viszonylag egyszerű mintaelőkészítések az online extrakciónak köszönhetőek. Az általunk használt online extrakciós oszlop egy reverz fázisú, módosított sztirol-divinil-benzol alapú polimer szorbens, ami magas szerves oldószer arányú eluenssel történő mosási körülmények között erősen visszatartja (π - π kölcsönhatás, dipól-dipól kölcsönhatás illetve hidrofób kölcsönhatások révén) a semleges, vagy lúgos vegyületeket, valamint eliminálja a nem kívánt szennyeződések (pl. fehérjék, foszfolipidek), ezzel jelentősen megkönnyíti a manuális mintaelőkészítést, valamint számottevően megnöveli az analitikai oszlop élettartamát.

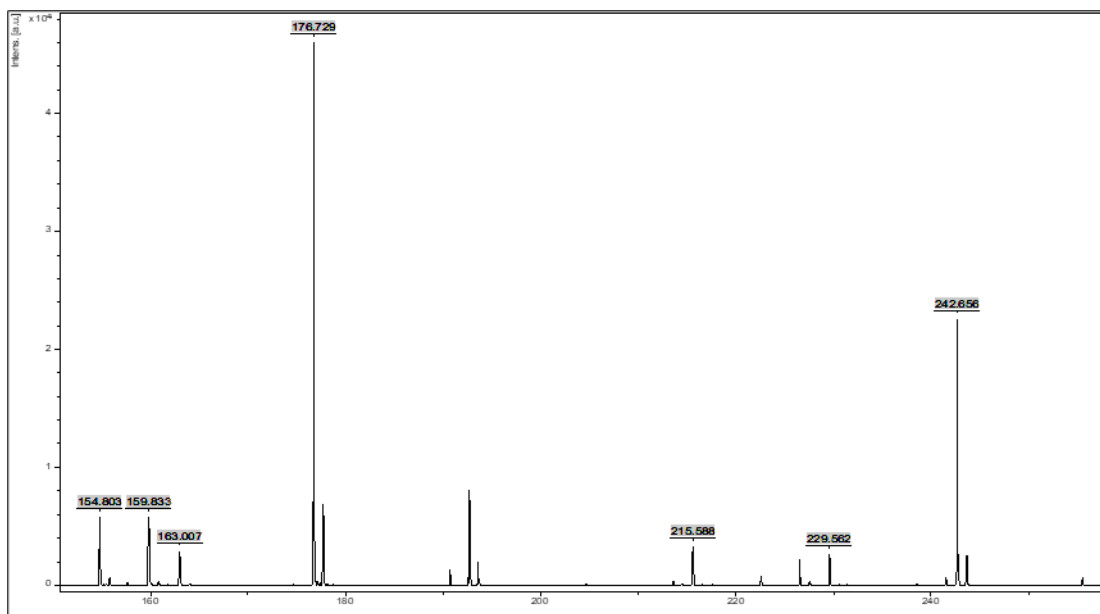
A statisztikai elemzéseket Microsoft Office16 (Excel) programmal végeztük.

4. Eredmények

4.1. Ismeretlen porok hatóanyagainak azonosítása

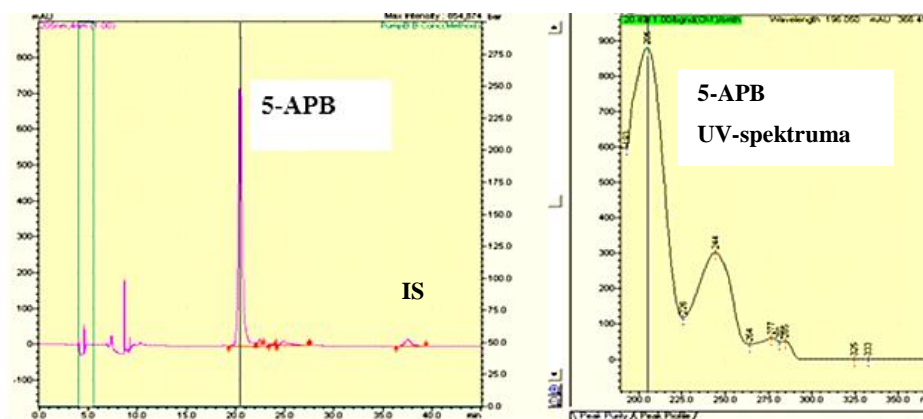
Általánosságban elmondható, hogy a kábítószer kimutatására alkalmazott kromatográfiás készülékek/módszerek csak abban az esetben képesek azonosítani a mintában lévő szert, amennyiben annak tulajdonságai (pl. UV-spektrum, tömegspektrum, fragmentumok) rögzítésre kerültek. Ehhez megfelelő tisztaságú, ismert hatóanyagú és koncentrációjú standardokra van szükség. Az új pszichoaktív anyagok megjelenésével talán a legnagyobb problémát a toxikológiai laboratóriumok számára a gyári standardok hiánya okozza. Számos esetben biológiai mintában előbb találkozunk egy új szerrel, mint ahogy a standard rendelkezésre állna. 2010-11-ben olyan, a Pécsi Drogambulanciáról kapott, vagy az internetről (a rendelés idején még legálisan beszerezhető) vásárolt porokat/tablettákat használtunk standardként, melyek bizonytalan eredete miatt a hatóanyagaik azonosítására volt szükség. (Természetesen a hatóanyag tartalom ismerete nélkül a későbbiekben azoknál a biológiai mintáknál, ahol ezeket az anyagokat, mint standardokat alkalmaztuk, csak kvalitatív analízisre volt lehetőségünk.) A méréseket MALDI-TOF tömegspektrométeren végeztük, az anyagok azonosítása a tömegük (tömeg/töltés; m/z) alapján történt. A módszer segítségével összesen tíz új pszichoaktív anyagot azonosítottunk:

- 5 szintetikus katinont (mefedron, MDPV, 4-FMC, 4-MEC, pentedron);
- 2 fenetil-amint (4-fluoroamfetamin és 5-APB (20. ábra));
- 2 szintetikus kannabinoid receptor agonistát: (JWH-122 és AM-2201);
- 1 arilciklohexilamint (metoxetamin).



20. ábra 5-APB tömegspektruma, $M_{5-APB} = 175$ g/mol.

A tömeg meghatározása után a HPLC-DAD készüléken is megfuttattuk a mintát, meghatározva a retenciós időt, a relatív retenciót és az UV-spektrumot (21. ábra).



21. ábra 5-APB HPLC-DAD kromatogramja és UV-spektruma, $t_R: 20,494$ min, $t_{RR}: 0,545$

2013-tól a standardok problémája többé-kevésbé megoldódott oly módon, hogy a Bűnügyi Szakértői és Kutató Intézet (BSZKI), majd 2017-től a jogutód Nemzeti Szakértői és Kutató Központ (NSZKK) a lefoglalásokból származó új pszichoaktív szereket [gázkromatográfiával kapcsolt tömegspektrométer (GC-MS), csillapított teljes reflexió spektroszkópia/fourier transzformációs spektroszkópia (ATR/FTIR) és kvantitatív mágneses magrezonancia spektroszkópia (qNMR) eljárásokkal történt előzetes bevizsgálás után] a PTE ÁOK Igazságügyi Orvostani Intézet rendelkezésére bocsátja.

4.2. Új pszichoaktív anyagok keresztreakciói hagyományos kábítószerek (Amfetamin/Metamfetamin; Kannabinoidok) mérésére alkalmas immunkémiai módszerrel (FPIA)

A mérés indikációi:

- stimuláns típusú új pszichoaktív szerek esetén: számos igazságügyi vizeletminta rendőrségen végzett gyorseszteszt eredménye amfetaminra pozitivitást mutatott, majd immunkémiai teszttel (FPIA) meghatározva az amfetamin koncentrációja sok esetben meghaladta a 8000 ng/ml-t. Ugyanazon minták HPLC-DAD módszerrel történt analízise során amfetamin nem volt kimutatható;
- szintetikus kannabinoid receptor agonisták esetén: néhány klinikai vizeletmintában, ahol az anamnézis szerint „Biofü” használata merült fel, az ABBOTT AxSYM[®] Cannabinoids teszt szenzitivitása (13 ng/ml) körüli értékeket kaptunk.

4.2.1. Különböző stimuláns típusú új pszichoaktív szerrel spike-olt vizelet minták mérése ABBOTT AxSYM[®] Amphetamine/Metamphetamine II. (FPIA) reagenssel

A mérések előtt a gyári, háromszintű (low, medium, high) kontrollok mérését elvégeztük, valamint „saját” kontrollként 98%-os tisztaságú amfetamin port használtunk (8. táblázat).

A mérési eredmények mértékegysége: ng/ml.

Vak	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
<u>Minta konc.</u>	<u>10 µg/ml</u>	<u>5 µg/ml</u>	<u>2,5 µg/ml</u>	<u>1 µg/ml</u>	<u>0,5 µg/ml</u>
<u>Név</u>					
<i>Amfetamin</i>	>8000	5302	2642	954	447

8. táblázat Amfetaminnal spike-olt vizelet minták mérési eredményei ABBOTT AxSYM[®] Amphetamine/Metamphetamine II. reagenssel

A mérések eredményeit a 9. táblázat foglalja össze.

<u>Minta konc.</u> <u>Név</u>	<u>100 µg/ml</u>	<u>80 µg/ml</u>	<u>40 µg/ml</u>	<u>20 µg/ml</u>	<u>10 µg/ml</u>
<i>1. Mefedron</i>	<i>1405</i>	<i>1109</i>	<i>398</i>	<i>225</i>	<i><100</i>
<i>2. 4-FMC</i>	<i>807</i>	<i>756</i>	<i>335</i>	<i>171</i>	<i><100</i>
<i>3. 4-MEC</i>	<i>1502</i>	<i>1236</i>	<i>644</i>	<i>426</i>	<i>198</i>
<i>4. Pentedron</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>
<i>5. 4-FA</i>	<i>107</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>
<i>6. MDPV</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>
<i>7. 5-APB</i>	<i>>8000</i>	<i>>8000</i>	<i>>8000</i>	<i>>8000</i>	<i>>8000</i>
<i>8. Metoxetamin</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>	<i><100</i>

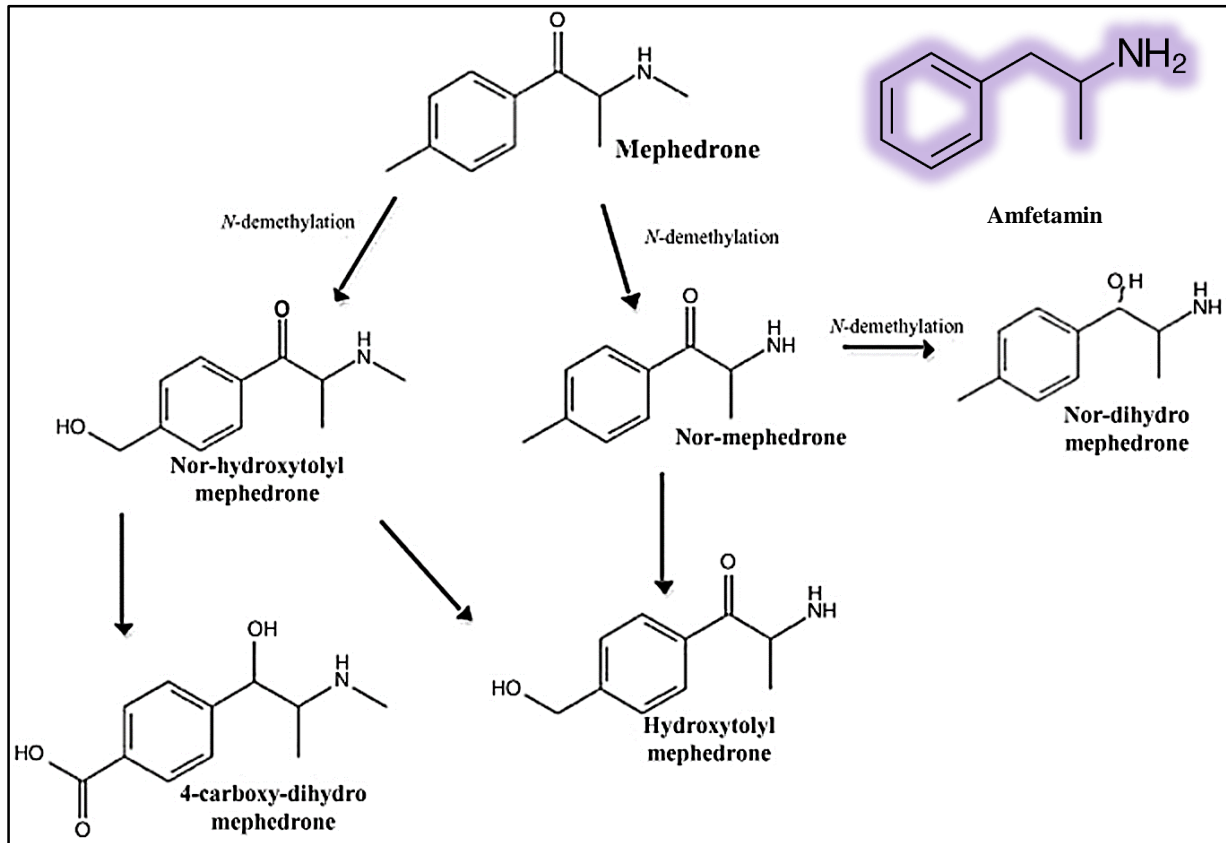
<u>Minta konc.</u> <u>Név</u>	<u>10 µg/ml</u>	<u>5 µg/ml</u>	<u>2,5 µg/ml</u>	<u>1 µg/ml</u>	<u>0,5 µg/ml</u>
<i>5- APB</i>	<i>>8000</i>	<i>4426</i>	<i>2300</i>	<i>677</i>	<i>206</i>

9. táblázat Különböző stimuláns típusú új pszicoaktív szerrel spike-olt vizelet minták mérési eredményei
ABBOTT AxSYM® Amphetamine/Metamphetamine II. reagenssel

Eredmények:

- Nincs keresztreakció: pentedron, 4-FA, MDPV, metoxetamin.
- Minimális keresztreakció: mefedron, 4-FMC, 4-MEC.
- Erős keresztreakció: 5-APB.

Az igazságügyi vizeletmintákban mért magas amfetamin koncentráció oka - az 5-APB kivételével - feltehetően nem az anyavegyület, hanem a metabolitok keresztreakciójának a következménye (22. ábra).



22. ábra Az amfetamin és a mefedron fő metabolitjainak (Green AR., et al., 2014) szerkezeti hasonlóságai

Mivel metabolit standardok nem álltak rendelkezésre, további mérésekre nem volt lehetőség.

4.2.2. JWH-122-vel spike-olt vizelet és szérum minták mérése ABBOTT AxSYM® Cannabinoids (FPIA) reagenssel

A mérések előtt a gyári, háromszintű (low, medium, high) kontroll mérését elvégeztük. A mérések eredményeit a 10. táblázat foglalja össze.

A mérési eredmények mértékegysége: ng/ml.

Vak	0	0	0	0	0
<u>Minta konc.</u>	<u>10 µg/ml</u>	<u>5 µg/ml</u>	<u>2,5 µg/ml</u>	<u>1 µg/ml</u>	<u>0,5 µg/ml</u>
<u>Név</u>					
1. JWH-122 vizelet	0	0	0	0	0
2. JWH-122 szérum	0	0	0	0	0

10. táblázat JWH-122-vel spike-olt szérum és vizelet minták mérési eredményei ABBOTT AxSYM® Cannabinoids reagenssel

Eredmény: a JWH-122 és a Cannabinoids reagens között nincs keresztreakció. Tapasztalataink szerint a THC gyorsteszték sem adnak pozitív eredményt szintetikus kannabinoid receptor agonista fogyasztás esetén, így a további szintetikus kannabinoidokat ez irányban nem vizsgáltuk tovább.

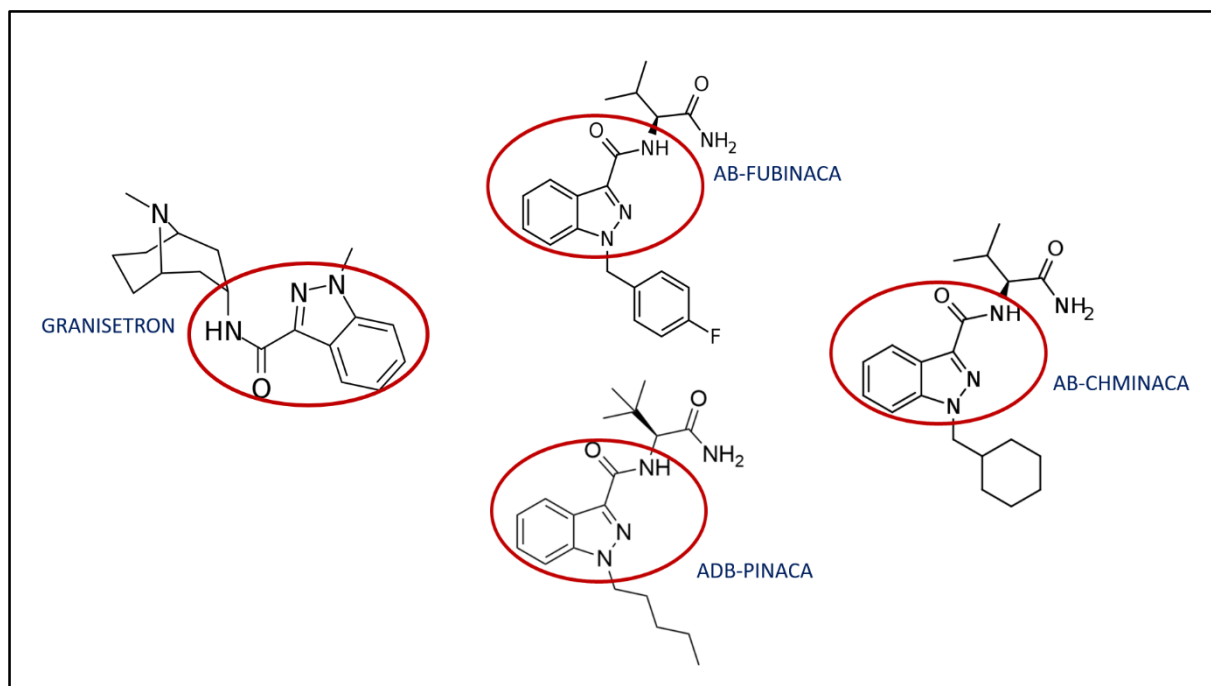
Fontos kiemelniünk a korábban (a hagyományos drogok) szűrésére jól bevált immunkémiai elven működő tesztek (pl. drog-gyorsteszték) használatának korlátait. Az új anyagok tekintetében sem a gyorsteszték, sem a hagyományos drogokra kifejlesztett immuno-assay-k szűrésre nem alkalmasak; álpozitív (pl. szintetikus katinonok és amfetamin) és álnegatív (pl. szintetikus kannabinoidok és THC) eredmények gyakori előfordulása miatt. Tehát a drogfogyasztás tényének megállapításához minden esetben *nagyműszeres megerősítő vizsgálatra van szükség.*

4.3. A szintetikus kannabinoid receptor agonisták kimutatásának analitikai problémái

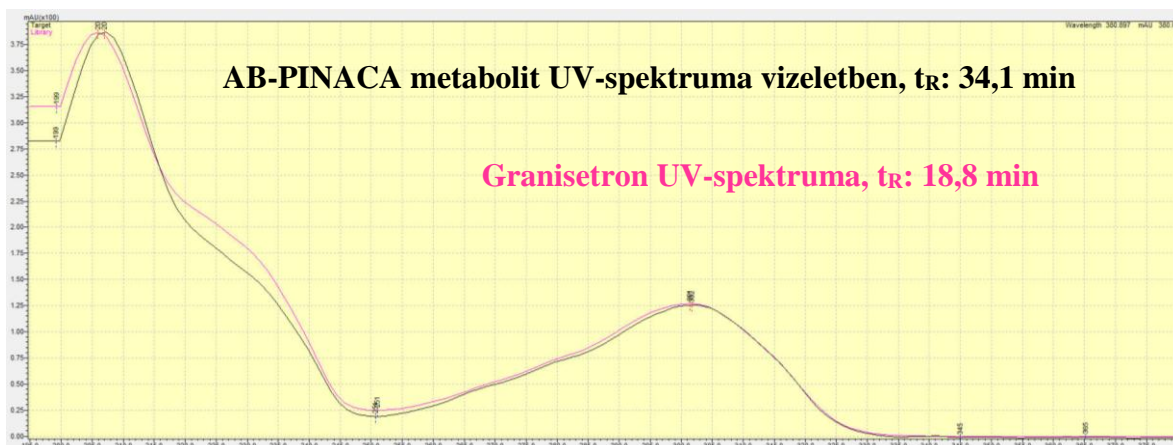
A kábítószer-vizsgálatokban a vizelet a leggyakoribb mátrix, ennek számos oka van; a mintavétel nem invazív, valamint magasabb a gyógyszerkoncentráció és hosszabb a detektálási időtartam, mint akár a vér, vagy más biológiai minta esetén. *Az SZKRA vegyületek gyors metabolizációjuknak köszönhetően, az anyavegyületek a vizeletben alig, vagy egyáltalán nem mutathatók ki változatlan formában.* Szakirodalmi adatok szerint a fogyasztás igazolására a fázis I. metabolitok a legjobb markerek, mivel nagyobb tömegspektrometriás válasszal rendelkeznek és stabilabbak, mint a fázis II. metabolitok. Néhány vegyület esetén a metabolitok toxikusabbak, mint az anyavegyület, például a JWH-018 fő metabolitjai, a 4'-OH-JWH-018 és

az 5'-OH-JWH-018, valamint az AM-2201 metabolitja, a 4'-OH-AM-2201 teljes agonisták maradtak nanomoláris koncentrációban is (Diao X. et al., 2019). A metabolit vizsgálatok alapvető fontosságúak, de még kevés a releváns szakirodalmi adat az egyes szereket tekintve. Fontos kiemelni, hogy egy metabolit akár több anyavegyület anyagcsere terméke is lehet, ezért *a magyar jogrendben (jelenleg) a fogyasztás igazolására kizárólag az anyavegyület azonosítása alkalmas*. Az erre alkalmas készülék (legtöbb esetben) valamilyen elválasztási technikával (GC, HPLC, szuperkritikus fluid kromatográfia) kapcsolt tömegspektrométer (MS), vagy tandem tömegspektrométer (MS/MS).

A fenti okok miatt 2014-ig HPLC-DAD módszerrel nem próbáltuk kimutatni az SZKRA-kat, de ebben az évben számos vizelet mintában (akár igazságügyi, akár klinikai) olyan hasonló UV-spektrumú és retenciós idejű anyag jelenlétére figyeltünk fel, amit később SZKRA metaboliként tudtunk azonosítani. A készülék az UV-spektrum alapján a könyvtárában szereplő „Granisetron” hatóanyagként azonosította a kérdéses anyagot, ami antiemetikus hatású, citosztaticus kezelés okozta émelygés és hányás hatékony csillapítására szolgál. Kémiai szerkezetét tekintve a molekula kromofór része nagy hasonlóságot mutat néhány SZKRA kromofór csoportjával (23. ábra) és ennek köszönhetően az UV-spektrumok is hasonlóak (24. ábra).

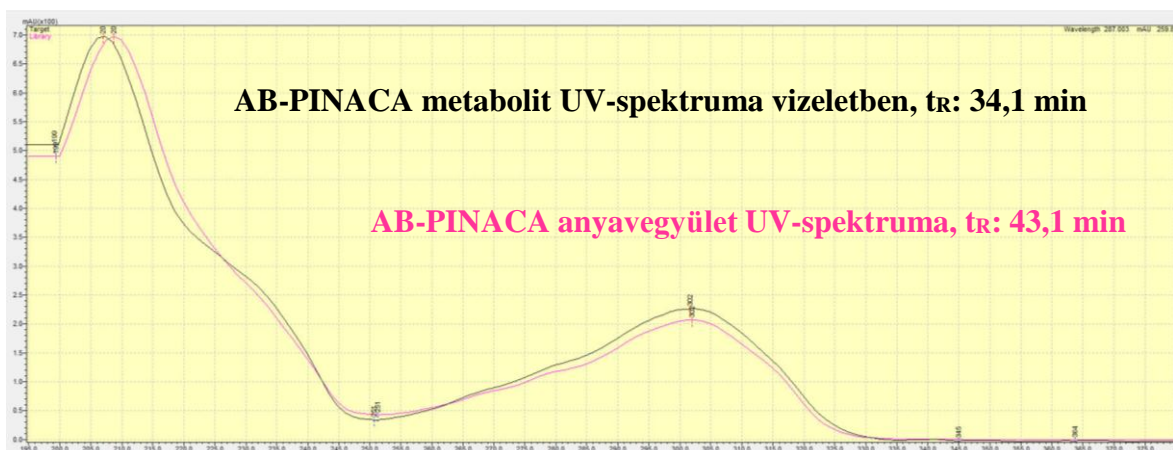


23. ábra Granisetron és néhány SZKRA vegyület hasonlósága



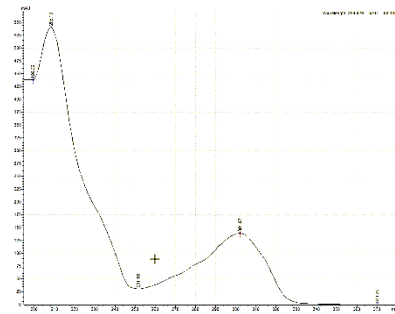
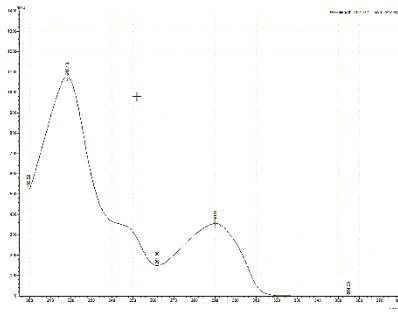
24. ábra Granisteron és AB-PINACA metabolit UV-spektrumai vizeletben

A diódasoros detektálás lehetővé teszi a hasonló szerkezetű anyagok egy csoportba való besorolását, a hasonló UV-spektrum alapján (pl. a kation szerkezetű vegyületek UV-spektruma is hasonló). Az akkor rendelkezésre álló SZKRA standardok felvitele után, az anyavegyület és a metabolitok hasonlósága egyértelművé vált (25. ábra). A különbség a retenciós idők eltéréseiben van. Ugyanezen minták SFC-MS/MS (PTE, ÁOK, Igazságügyi Orvostani Intézet) módszerrel történt megerősítő vizsgálata során beigazolódott az SZKRA fogyasztása.



25. ábra AB-PINACA metabolit vizeletben és az anyavegyület UV-spektruma

HPLC-DAD módszerrel az indol- (pl. MDMB-CHMICA, 5F-MDMB-PICA, 4F-MDMB-BICA) és indazol (pl. AB-PINACA, ADB-FUBINACA, ADB-CHMINACA) (26. ábra) bázisú SZKRA vegyületek metabolitjait (elvéve az anyavegyületet) tudjuk kimutatni.

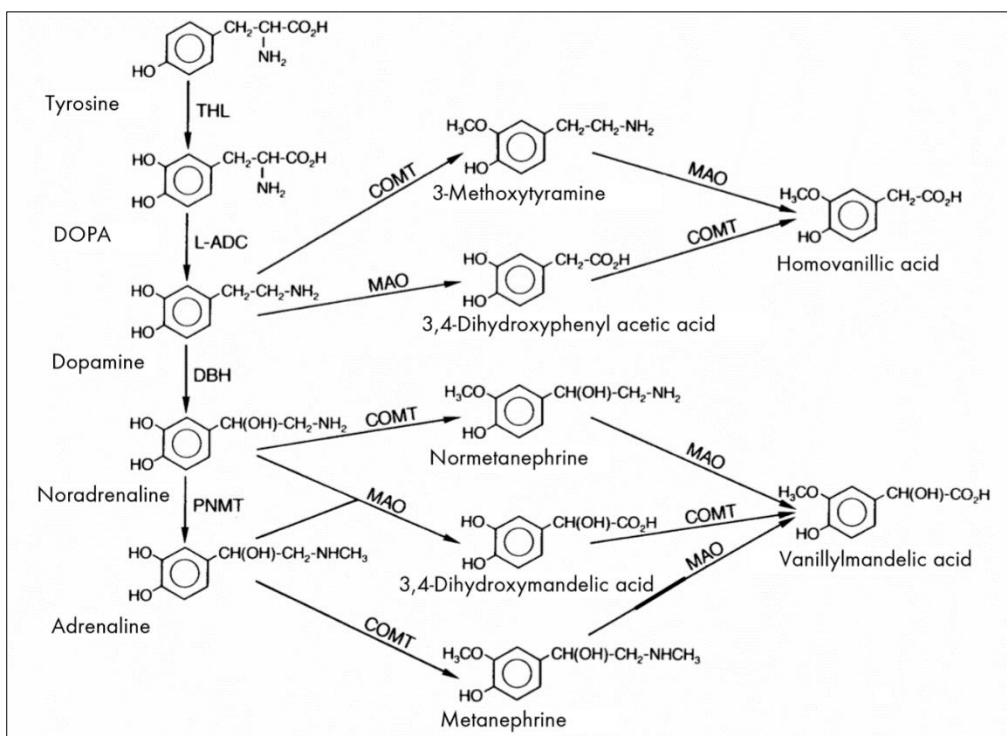


26. ábra Indol bázisú SZKRA-k UV-spektruma (balra); Indazol típusú SZKRA-k UV-spektruma (jobbra)

Nyilvánvalóan az igazságügyi minták esetében a metabolit jelenléte nem bizonyító erejű, de klinikai mintáknál az intoxikáció lehetséges okainak felderítésében a vizeletben kimutatott metabolit önmagában is elegendő a fogyasztás igazolására. A klinikai toxikológiában kérdés, hogy a klinikus számára milyen többlet információval bír a SZKRA pontos beazonosítása, hiszen specifikus antidótuma nincs, a terápia a tünetek kezelését fedi le.

4.4. Szérum katekolamin szintek meghatározása stimuláns típusú új pszichoaktív szert fogyasztók mintáiban

A katekolaminok (monoaminok) az adrenalin (epinefrin), a noradrenalin (norepinefrin) és a dopamin (biogén aminok) hormonként és neurotranszmitterként központi szerepet játszanak a szervezetben. Szintézisüket és lebontásukat az 27. ábra foglalja össze.



27. ábra Katekolaminok szintézise és lebontása

A központi idegrendszer több neuroncsoportjában a szintézis megáll a dopamin szintjén, így ezeknek az idegsejteknek a transzmittere a dopamin. A szimpatikus idegvégződésekben a szintézis tovább halad a noradrenalinig, amely a legfontosabb transzmitter. A noradrenalin adrenalin átalakulásához szükséges N-metil-transzferáz enzim csak a mellékvesevelőben található meg, így adrenalin máshol a szervezetben nem keletkezik. A mellékvesevelő 4:1 arányban tartalmaz adrenalin és noradrenalin. A katekolaminok raktározása az axonterminális vezikulákban történik, felszabadulásuk Ca^{2+} függő exocitózissal történik. Hatásukat a sejt felszíni receptorokhoz kötődve fejtik ki. Igen sokféle és egymással sokszor ellentétes hatásuk a kétféle adrenerg receptor létezésével magyarázható. Fiziológiai körülmények között az adrenalin elsősorban a béta (β), míg a noradrenalin az alfa (α_1 és α_2) receptorokat izgatja. Nagyobb adagban, erős szimpatikotóniában, pl. Cannon-féle vészreakció alkalmával azonban elsősorban az adrenalin α -receptiót okozó hatásával kell számolni. A szervezetben lévő katekolaminok szintjét számtalan tényező befolyásolhatja: testhelyzet, táplálkozás (banán, kávé, tea, vanília, kakaó, csokoládé, citrusfélék, stb.), életmód (dohányzás, elhízás, stressz), gyógyszerek (paracetamol, albuterol, aminofillin, buspiron, kalcium-csatorna blokkolók, cyclobenzaprine, levodopa, metildopa, nagy adagban a nikotinsav, fenotiazinok, pseudoefedrin, reszerpin, triciklikus antidepresszánsok, stb.) mind növelhetik a katekolamin koncentrációt.

A katekolaminok meghatározásának klinikai jelentősége a feokromocitómák és más idegrendszeret érintő daganatok (neuroblasztómák) diagnosztizálásában van. Ezek a betegségek katekolamin felesleg termelését eredményezik, amelyek aztán a vizelettel ürülnek. Az adrenalin és a noradrenalin koncentrációja fontos indikátor lehet továbbá a szívelégtelenség, a szívbetegségek és az ateroszklerózis szempontjából is.

Laboratóriumi meghatározásuk történhet szérumból, plazmából vagy vizeletből. A meghatározás módja általában kromatográfias eljárással kapcsolt tömegspektrometriás vagy elektrokémiai detektálás. Utóbbi esetben a katekolaminok (fenil-alkilamin-származékok) szerkezeti felépítésében részt vevő katekolgyűrű játssza a döntő szerepet, melyen a 3-as és 4-es pozícióban könnyen oxidálható OH-csoportok („elektroaktív” csoport) helyezkednek el.

Kutatásunk célja a stimuláns típusú új pszichoaktív szert fogyasztók szérum mintáiban a mért katekolamin koncentrációkra irányult. A méréseket 2017. július és 2017. december között végeztük. A célcsoport szérum katekolamin vizsgálata mellett 6 darab egészséges, drogfogyasztásra negatív szérum minta katekolamin koncentrációjának mérésére került sor (kontroll-csoport). A célcsoport beválogatási kritériumai voltak: stimuláns típusú új pszichoaktív szer kimutatása vizeletben (HPLC-DAD), valamint, hogy egyéb gyógyszer és/vagy kábítószer ne tartalmazzon a vizelet. Összesen 9 olyan mintát találtunk, ahol a feltételek teljesültek. (Az alacsony elemszám egyik oka, hogy a toxikológiai vizsgálatra küldött minta típusok nagy része kizárólag *vizelet*.) A célcsoport vizelet mintáiban kimutatott új pszichoaktív szereket és mennyiségeiket a 11. táblázat foglalja össze.

<i>Minta sorszáma</i>	<i>Vizeletben kimutatott stimuláns típusú új pszichoaktív anyagok és mennyiségeik</i>	
1.	Pentedron	41,23 µg/ml
2.	N-etil-pentilon	91,25 µg/ml
	N-etil-hexedron	1,22 µg/ml
	4-metil-N-etil-norppedron	0,28 µg/ml
3.	N-etil-pentilon	26,21 µg/ml
	4-metil-N-etil-norppedron	0,18 µg/ml
4.	N-etil-hexedron	6,57 µg/ml
5.	4-metil-N-etil-norppedron	0,47 µg/ml
	N-etil-pentilon	5,69 µg/ml
6.	N-etil-pentilon	33,1 µg/ml
7.	Pentedron	18,36 µg/ml
8.	N-etil-hexedron	0,08 µg/ml
9.	N-etil-hexedron	10,05 µg/ml
	4-Cl-PVP	0,07 µg/ml

11. táblázat A célcsoport vizelet mintáiban kimutatott stimuláns típusú új pszichoaktív anyagok és mennyiségeik.

A katekolaminok meghatározása a szérumban HPLC/EC (DACADE II. SCD) módszerrel történt. A szérum katekolamin koncentrációk referencia tartományai (Chromsystems) a következők voltak:

- Noradrenalin: 80-499 ng/l (0,47-2,95 pmol/l),
- Adrenalin: 3-82 ng/l (0,02-0,45 pmol/l),
- Dopamin: 2-58 ng/l (0,013-0,379 pmol/l).

A kontroll- és a célcsoport referencia tartományon kívül eső (azt meghaladó) szérum katekolamin koncentrációkat piros színnel jelöltük.

A kontroll-csoport (egészséges, gyógyszert rendszeresen nem szedő, kábítószer és alkoholt nem fogyasztott páciensek) szérumaiban mért katekolamin koncentrációkat az 12. táblázat foglalja össze.

<i>Minta Sorszáma</i>	<i>Noradrenalin [ng/l]</i>	<i>Adrenalin [ng/l]</i>	<i>Dopamin [ng/l]</i>
1.	236	17	34
2.	274	70	22
3.	370	59	18
4.	212	69	25
5.	314	99	20
6.	231	111	22

12. táblázat A kontroll-csoport szérumaiban mért katekolamin koncentrációk

A célcsoport szérumaiban mért katekolamin koncentrációkat az 13. táblázat tartalmazza.

<i>Minta Sorszáma</i>	<i>Noradrenalin [ng/l]</i>	<i>Adrenalin [ng/l]</i>	<i>Dopamin [ng/l]</i>
1.	188	293	334
2.	404	200	226
3.	2913	966	385
4.	237	215	265
5.	2873	175	290
6.	358	370	203
7.	1084	212	396
8.	1098	225	382
9.	589	180	603

13. táblázat A célcsoport szérumaiban mért katekolamin koncentrációk

Hipotézisünket, miszerint a célcsoport katekolamin koncentrációi mindhárom vizsgált vegyület tekintetében szignifikánsan eltérnek a kontroll csoportban mért koncentrációktól, statisztikai elemzéssel (Student-féle kétmintás, heteroszcedatikus T-próba) próbáltuk alátámasztani. Az eredmények szerint a dopamin ($p=4,44 \times 10^{-5}$) és az adrenalin ($p=0,019$) kontroll- és célcsoportban mért koncentrációi szignifikánsan eltérnek egymástól, míg a noradrenalin esetében ($p=0,054$) nincs szignifikáns különbség a két csoport között.

4.5. Tárolási körülmények hatása az új pszichoaktív szerek *in vitro* stabilitására vizetben

A kutatás indikációi:

Az intézetünkbe érkező minták kétfélek lehetnek:

1. igazságügyi minták (rendőrségi minták, igazságügyi boncolásból származó minták), és
2. klinikai minták (feltételezett intoxikált betegek mintái).

Az PTE KK Laboratóriumi Medicina Intézetben az igazságügyi minták előszűrése történik HPLC-DAD (Shimadzu Prominence TOX.I.S.II.) módszerrel, majd ugyanezen minták megerősítő vizsgálata SFC-MS/MS eljárással a PTE ÁOK Igazságügyi Orvostani Intézetében zajlik. Az igazságügyi szakértői vélemény tehát a két nagyműszeres vizsgálat eredményeinek figyelembevételével jön létre. Az évek során több olyan eset fordult elő, mikor a két módszer eredménye nem, vagy csak részben egyezett meg. Ilyen esetekben a minta újra analizálására volt szükség. Egyazon minta első és második mérése között akár több hónap is eltelt. Hasonló eset áll fenn olyan, vélhetően kábítószer túladagolás miatt bekövetkezett halál esetén, amikor a betegől származó első minta klinikai mintavételből származik, a második mintavétel pedig már poszt mortem történik. Ilyen esetekben, amennyiben a posztmortem vizsgálat negatív eredménnyel zárul (pl., ha a kórházi felvételkor vett első mintában kimutatott anyag hosszabb kórházi kezelés után a poszt mortem mintában már nem detektálható) is szükség lehet az első minta újbóli analizálására.

A két intézetben tárolt minták tárolási körülményei eltérőek:

- az igazságügyi mintákat az Igazságügyi Orvostani Intézetben 3 évig -20°C -on őrzik meg;
- a klinikai mintákat kb. fél évig $2-8^{\circ}\text{C}$ -on tároljuk;
- azok a klinikai minták, amelyek esetén a beteg mérgezés következtében hunyt el, minél előbb fagyasztásra (-20°C) kerülnek.

Az új pszichoaktív szerek stabilitására vonatkozó nemzetközi szakirodalmak száma rendkívül csekély (pl.: Johnson et al., 2013; Busardo et al., 2015), hazai pedig egyáltalán nem létezik. Kutatásunk célja annak megállapítása, hogy az új pszichoaktív szerek egyes képviselői milyen biztonsággal mutathatók ki meghatározott időintervallumokban szobahőmérsékleten (25°C), hűtőszekrényben (4°C), illetve fagyasztóban (-20°C) tárolt igazságügyi és klinikai toxikológiai vizsgálatra érkezett *vizetmintákból*. Előzetes hipotézisünk alapján, a szobahőmérsékleten tárolt mintákban mért drogszintek szignifikánsan alacsonyabbak lesznek a

fagyasztott mintákban detektált koncentrációkhoz képest. A méréseket 2017. október és december között végeztük.

A mérések előtt négy pszichoaktív anyagra (két hagyományos: amfetamin és MDMA valamint két új: N-butil-pentilon és ADB-FUBINACA) nézve elvégeztük az egy napon belüli (14. táblázat) és napok közötti (15. táblázat) precizitás (precision) és torzítatlanság (accuracy) vizsgálatokat spike-olt vizeletmintákban.

	<i>Amfetamin</i>	<i>MDMA</i>	<i>N-butil-pentilon</i>	<i>ADB-FUBINACA</i>
<i>Célérték (µg/ml)</i>	0,3	2	7,5	1,6
<i>Átlag ± szórás</i>	0,348 ± 0,0151	2,14 ± 0,0668	7,69 ± 0,3106	1,65 ± 0,05564
<i>Precizitás (RSD%)</i>	4,47	3,12	4,03	3,35
<i>Torzítatlanság (%)</i>	113	107	102	103

14. táblázat Napon belüli precizitás és helyesség (n=5)

	<i>Amfetamin</i>	<i>MDMA</i>	<i>N-butil-pentilon</i>	<i>ADB-FUBINACA</i>
<i>Célérték (µg/ml)</i>	0,3	2	7,5	1,6
<i>Átlag ± szórás</i>	0,34 ± 0,0109	2,11 ± 0,0356	7,72 ± 0,2049	1,69 ± 0,1031
<i>Precizitás (RSD%)</i>	3,14	1,68	2,65	6,1
<i>Torzítatlanság (%)</i>	116	105	102	105

15. táblázat Napok közötti precizitás és szórás (n=5)

Olyan mintákat dolgoztuk fel, melyeknek a beérkezés utáni első analízise pozitívást mutatott valamely, a mintavétel idején „forgalomban” lévő új pszichoaktív szerre. Fontos megjegyezni, hogy néhány vizelet esetén a designer drogok mellett hagyományos kábítószeres jelenlétére is fény derült, ilyen esetekben természetesen ezek stabilitásának alakulását is ismertetjük.

Összesen 18 vizelet mintát vizsgáltunk, ebből 8 esetben egyazon vizelet három eltérő hőmérsékleten tárolt mérésére került sor, továbbá 10 olyan mintát analizáltunk újra, melyek 5-9 hónapig kizárólag szobahőmérsékleten voltak tárolva. A vizsgálatba tehát összesen 18 kábítószer-fogyasztó mintája került beválasztásra.

A minták beérkezése után végzett első analízis eredményei szolgáltak kontrollként, ezekhez hasonlítottuk a későbbiekben mért drogok koncentrációit (csúcs alatti területeit).

A laborba érkezéskor és a három eltérő hőmérsékleten 21 napig tárolt mintákban mért drogszinteket, illetve százalékos arányait a 16. táblázat foglalja össze. A koncentrációk

mértékegysége µg/ml, kivéve az AB-FUBINACA metabolitot, mely esetben, standard hiányában a koncentráció nem, csak a csúcs alatti terület (Area Under the Curve-AUC) határozható meg.

Minta sorszáma	Kimutatott pszichoaktív anyag	Első mérés		-20°C		4°C		25°C	
		µg/ml	%	µg/ml	%	µg/ml	%	µg/ml	%
1.	N-etil-pentilon	20.8	100	15.2	73	18.9	91	17.2	82
	Amfetamin	67	100	55.3	82	46.4	69	64.1	95
2.	N-etil-pentilon	19.3	100	17.8	92	17.2	89	16.8	87
	Amfetamin	64.2	100	54.1	84	57.5	89	62.3	97
3.	N-etil-pentilon	16.9	100	17.7	104	17.7	104	15.2	90
	Amfetamin	55	100	54.8	99	53.7	97	84	153
4.	N-etil-pentilon	17.1	100	15.8	92	15.6	91	15.5	90
	Amfetamin	56.6	100	55.4	98	54.4	96	86.4	152
5.	AB-FUBINACA anya	3.46	100	3.99	115	4.3	124	1.85	53
	AB-FUBINACA met. (AUC)	905	100	316	35	268	30	33	4
6.	AB-FUBINACA anya	7.26	100	7.9	109	7	96	2.15	30
	AB-FUBINACA met. (AUC)	712	100	ND	0	ND	0	ND	0
7.	N-etil-hexedron	0.4	100	0.24	60	0.19	47	0.017	4
	4-metil-N-etil-norpentedron	1.1	100	0.9	81	0.75	68	0.29	26
	MDMA	1.4	100	1.4	100	1.37	98	1.36	97
	Amfetamin	1.3	100	1.4	107	1.5	115	1.36	104
8.	4-Cl-PVP	0.07	100	0.07	100	0.04	57	0.05	71
	N-etil-hexedron	4.3	100	3.8	88	4.09	95	2.18	51

16. táblázat 21 nap után a különböző tárolási hőmérsékleteken detektált kábítószer koncentrációinak és százalékos arányainak változása az első méréshez képest

A kapott eredményekből elvégeztük a T-próbát oly módon, hogy a kontroll-csoportban mért koncentrációkat összevetettük a fagyasztóban, hűtőben, illetve szobahőmérsékleten tárolt mintákban mért koncentrációkkal. Az N-etil-pentilon esetén az első mérés, valamint a fagyasztott értékek között nem volt számottevő különbség ($p = 0,13$), hasonló eredményre jutottunk a hűtött vizeletek esetén is ($p = 0,09$), szobahőmérsékleten azonban már szignifikáns mértékű volt a drog bomlása ($p = 0,01$). Az amfetamin degradációja egyik tárolási hőmérsékleten sem volt szignifikáns. Ennél a szernél a fagyasztott mintákhoz tartozó p-érték 0,07 volt, míg hűtött, illetve szobahőmérsékleten tárolt vizeletekhez ennél magasabb érték társult, előbbihez $p = 0,09$ utóbbihoz pedig $p = 0,11$. Százalékos összehasonlításnál a 4-metil-N-etil-norpentedron szobahőmérsékleten jelentős mértékben elbomlott, hasonlóan az N-etil-

hexedronhoz és a 4-Cl-PVP-hez és az AB-FUBINACA anyavegyületéhez, de utóbbi metabolitja bizonyult a legérzékenyebbnek, mert ez a vegyület a tárolási körülményektől gyakorlatilag függetlenül jelentős mértékben, vagy teljesen lebomlott. Az MDMA koncentrációi nem változtak jelentősen a tárolási körülmények változtatásával.

A vizsgálatot kiterjesztettük olyan mintákra is melyek 5-9 hónapig szobahőmérsékleten voltak tárolva, az így kapott eredményeket az 17. táblázat tartalmazza. A kokain esetében kvantitatív standard hiányában a csúcs alatti területeket vettük alapul.

Minta sorszáma	Kimutatott pszichoaktív anyag	Első mérés		25°C		Eltelt idő (nap)
		µg/ml	százalék	µg/ml	százalék	
9.	N-etil-hexedron	35.2	100	0.18	0.51	280
	4-Cl-PVP	0.75	100	0.027	3.6	
10.	Amfetamin	4.73	100	5,1	107	272
	MDMA	65.9	100	63.67	96	
11.	N-etil-pentilon	15.8	100	ND	0	209
12.	N-etil-hexedron	3.48	100	ND	0	191
13.	AB-FUBINACA anya	3.04	100	ND	0	176
	AB-FUBINACA met. (AUC)	1930	100	16	0.83	
14.	Kokain (AUC)	293	100	ND	0	167
15.	Kokain (AUC)	1740	100	ND	0	167
16.	Amfetamin	9	100	10.8	120	153
17.	AB-FUBINACA anya	6.14	100	ND	0	126
	AB-FUBINACA met. (AUC)	1227	100	161	13	
18.	N-etil-hexedron	14.7	100	0.04	0.27	105
	4-Cl-PVP	0.14	100	ND	0	

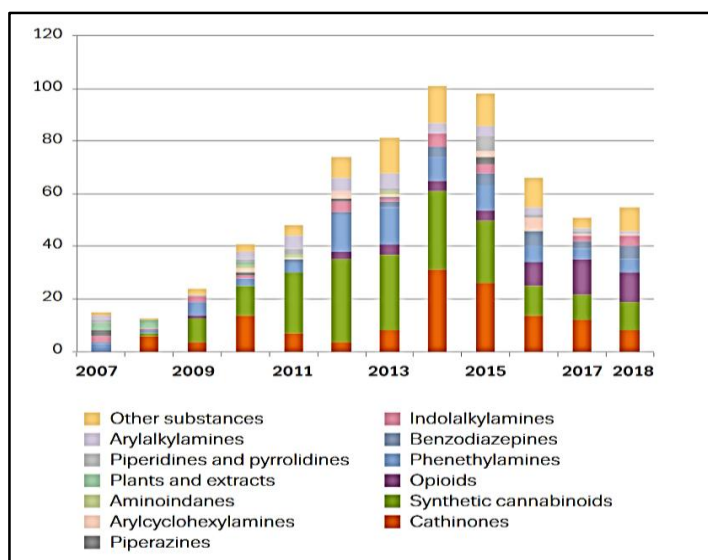
17. táblázat Szobahőmérsékleteken hosszabb ideig tárolt mintákban detektált pszichoaktív szerek és a hozzájuk tartozó koncentráció és százalékértékek.

A hagyományos stimulánsok (amfetamin, MDMA) a hosszabb szobahőmérsékleten történő tárolási idő ellenére is stabilnak bizonyultak, ellentétben gyakorlatilag az összes vizsgált anyaggal, amik esetén a bomlás számottevő.

A statisztikai próbák elvégzését a detektált szerek sokfélesége, a heterogén tárolási időtartamok, illetve az alacsony elemszám egyaránt korlátozta, ám ennek ellenére is figyelemre méltó változásokat találtunk az új pszichoaktív szerek esetén, sőt a hagyományos drogok közül a kokain szintén meglehetősen instabilnak bizonyult 25 °C-on tárolt vizeletmintákban.

4.6. *Stimuláns típusú hagyományos és új pszichoaktív szerek biológiai mintákban 2010 és 2019 között*

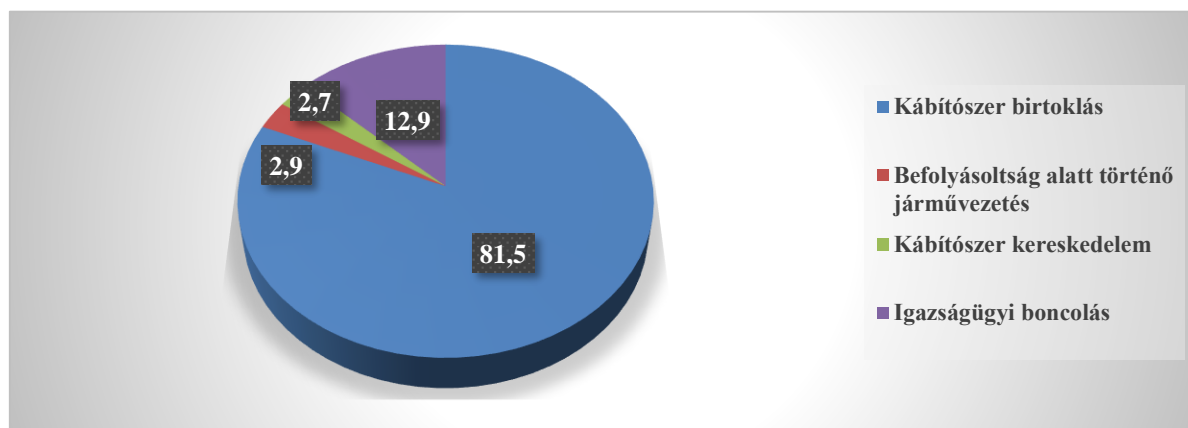
Az EMCDDA szerint több mint 730 új pszichoaktív anyag jelent meg az európai drogpiacon 1997 és 2018 között, melyeknek 90%-a 2008 után került bejelentésre (28. ábra) (EMCDDA, 2019). 2019 decemberéig ez a szám 950-re emelkedett (EMCDDA, 2019).



28. ábra Az Európai Unióban, Norvégiában és Törökországban először bejelentett új pszichoaktív anyagok száma, 2007-18.

A kábítószeres „ferradalma” a magyar drogpiacon sem kímélte, ezzel együtt a fogyasztói szokások is megváltoztak. Ennek a változásnak a nyomon követésére kézenfekvő módszer a fogyasztók biológiai mintáiban kimutatott hagyományos és új szerek megoszlása, amit baranyai viszonylatban az alábbiakban mutatunk be.

Mivel egy drogfogyasztó klinikai megjelenése általában az adott szer(ek) túladagolásának a következménye, a kutatáshoz a 2010 és 2019 között a laboratóriumba toxikológiai szűrésre érkezett igazságügyi mintákat (n=4604) használtuk fel, hogy minél reprezentatívabb eredmény születhessen. 4194 vizelet, 370 vér extraktum, 22 máj extraktum, 13 epe extraktum, 3 liquor, 1 gyomor extraktum, 1 lép extraktum és 1 vese extraktum került feldolgozásra. Eseteinkben a kirendelő hatóság igazságügyi toxikológiai szakértő kirendelését a 29. ábrán összefoglalt okok miatt rendelte el.



29. ábra Igazságügyi szakértői kirendelés okai százalékos arányban a vizsgált minták esetében

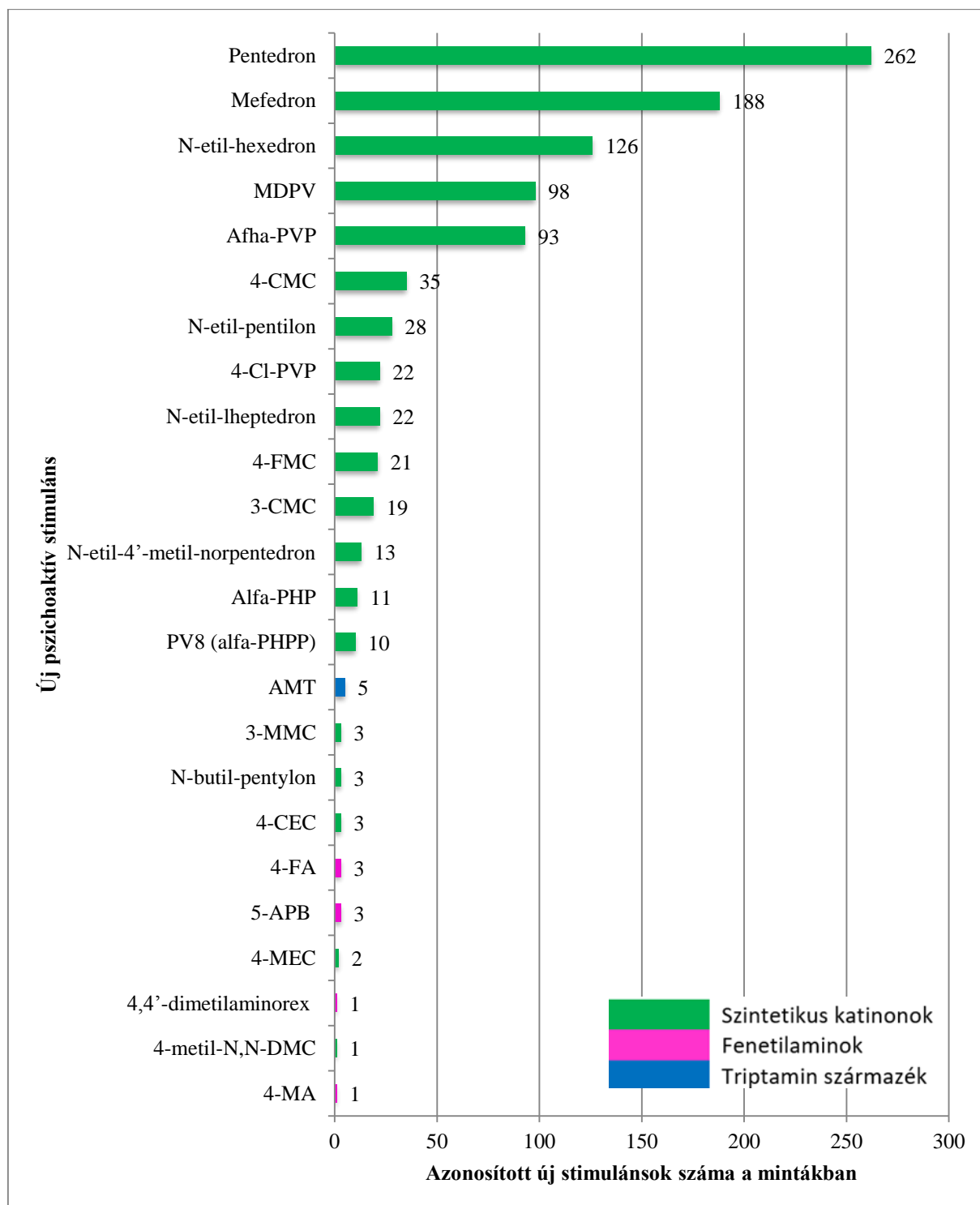
A kutatásban az szűrővizsgálatok elvégzésére intézetünkben HPLC-DAD módszert alkalmaztunk, majd az eredmények megerősítése SFC-MS/MS technikával történt (PTE ÁOK Igazságügyi Orvostani Intézet). 2010 és 2019 között összesen 72 új stimuláns típusú pszichoaktív szert (18. táblázat) kerestünk a mintákban.

2C-E	4-CMC	5-BPDI	eutilon	N-butil-pentilon
2C-TFM	4-EMC	5-DBFPV	izopropil-fenidát	N-etil-bufedron
2-MPA	4-FA	alfa-PBP	MDMA	N-etil-heptedron
3,4-CTMP	4-FEA	alfa-PHP	MDPHP	N-etil-hexedron
3,4-dimetoxi- α -PHP	4-fluoro-PHP	alfa-POP	MDPHP	N-etil-pentedron
3-kloroefedrin	4-FMC	alfa-PPP	MDPV	N-etil-pentilon
3-CMC	4F-pentedron	alfa-PVP	mefedron	NM-2AI
3-Fluorofenmetrazin	4F-PV9	alfa-PVT	metamfetamin	pentedron
3-MMC	4-MA	amfetamin	metamnetamin	pentilon
4,4'-dimetilaminorex	4-MC	AMT	metoxetamin	propil-fenidát
4-BMC	4-MEC	BMDP	metil-MMDA-2	PV8 (alfa-PHPP)
4-CDC	4-metil-pentedron	bufedron	metilon	TH-PVP
4-CEC	4-metil-bufedron	butil-hexedron	mexedron	
4-kloro- α -PVP	4-metil-N,N-DMC	dibutilon	MMMP	
4-Cl-PPP	4-metil-TMP	dipentilon	MPHP	

18. táblázat Kimutatható új pszichoaktív stimulánsok

4.6.1. A kimutatott új pszichoaktív stimulánsok gyakorisága

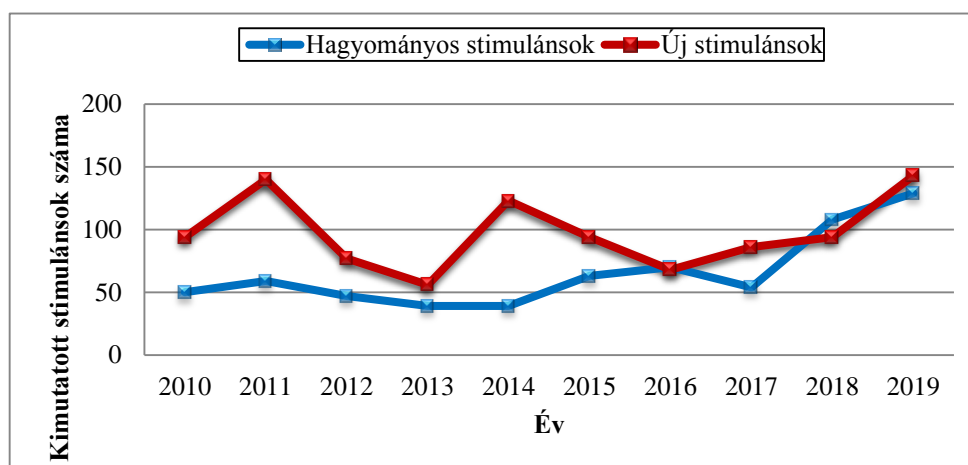
A 10 év alatt összesen 973 (21,1%/) minta bizonyult pozitívnak a vizsgált szerekre nézve. A pozitív esetek 98,66%-ában katinon 0,83 %-ában fenetilamin szerkezetű és 0,51%-ában triptamin szerkezetű stimulánsokat mutattunk ki (30. ábra).



30. ábra A mintákban kimutatott új pszichoaktív stimulánsok gyakorisága (n=973)

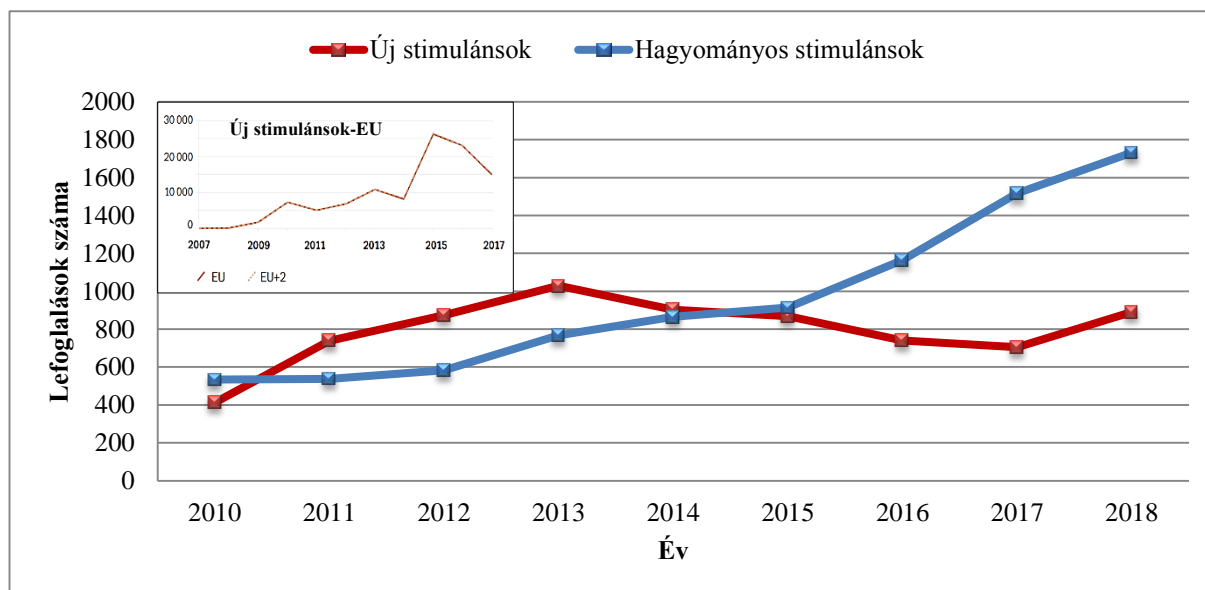
4.6.2. Az új és hagyományos pszichoaktív stimulánsok évenkénti megoszlása

Az eltelt tíz évben összesen 1361 (29,5%) mintában detektáltunk stimuláns típusú pszichoaktív szert. Ebből 973 új típusú, míg 658 esetben hagyományos vegyületet mutattunk ki. A hagyományos stimulánsok közé az amfetamint, a metamfetamint és az MDMA-t soroltuk. A 2016-os és a 2018-as évet kivéve az új anyagok előfordulási gyakorisága minden évben meghaladta a hagyományosokét, bár utóbbiak mennyisége is folyamatosan emelkedő tendenciát mutatott (31. ábra).



31. ábra Az új és hagyományos pszichoaktív stimulánsok évenkénti megoszlása a mintákban

A mintákban kimutatott adataink ellentmondanak mind a hazai, mind az európai lefoglalási statisztikáknak, melyek szerint az új stimulánsok lefoglalásai csökkenő és magyarországi viszonylatban a hagyományosoké növekvő tendenciát mutat (32. ábra). Regionális adataink

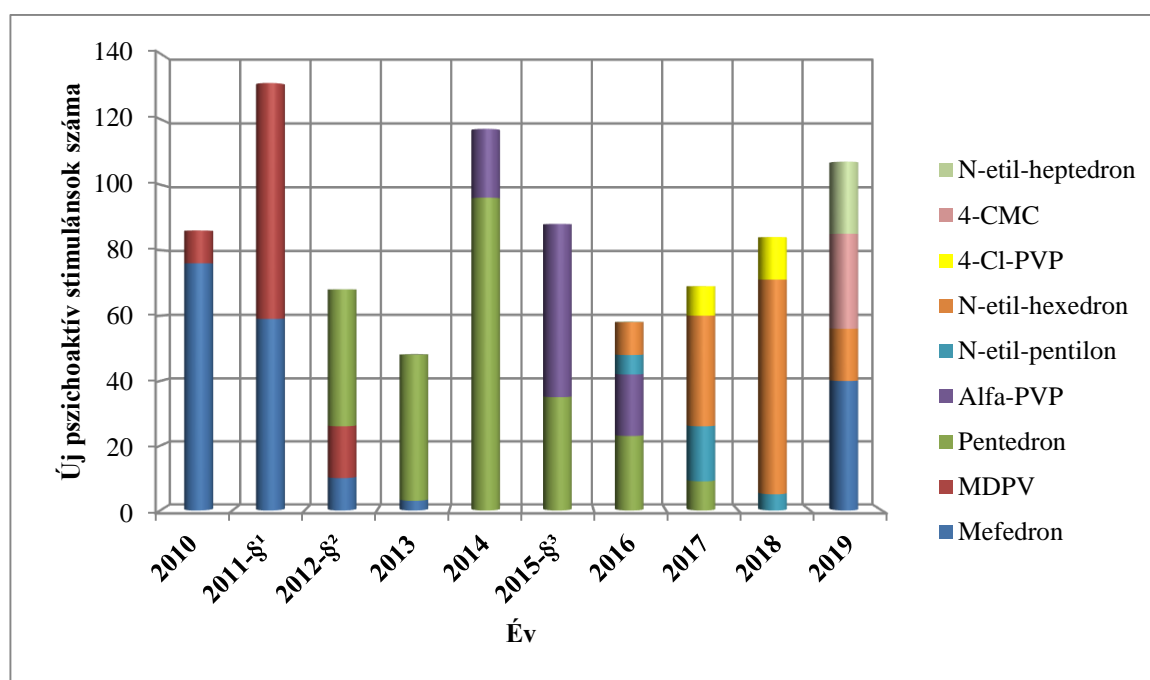


32. ábra Az új és a hagyományos pszichoaktív stimulánsok hazai (NSZKK, 2019) és EU-s (EMCDDA, 2019) lefoglalásainak éves megoszlása

alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a fogyasztók által preferált szerek nem feltétlenül egyeznek meg a legtöbbször/legnagyobb mennyiségben lefoglalt anyagokkal.

4.6.3. A mintákban kimutatott leggyakoribb új pszichoaktív és hagyományos stimulánsok

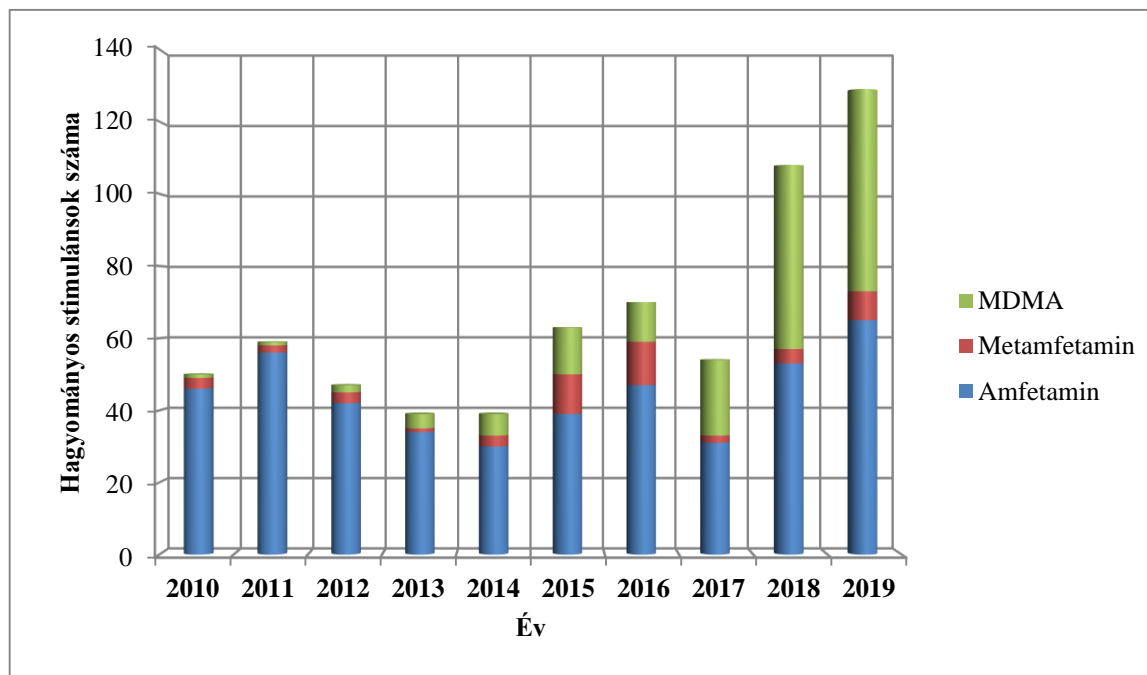
2010-ben a leggyakrabban fogyasztott új stimuláns a mefedron volt, ezt követte 2011-ben az MDPV, 2012-2013-ban a pentedron. 2014-2015-ben a pentedron mellett legnagyobb számban az alfa-PVP-t tudtuk detektálni. Egy új pszichoaktív anyag piaci jelenlétének időtartama legfőképp annak jogi státuszától függ. Magyarországon a mefedron 2011. január 1-től, az MDPV 2012. január 1-től, az alfa-PVP 2015. január 1-től került fel a 66/2012. (IV. 2.) Korm. rendelet Pszichotróp anyagok első (P1) jegyzékére, a pentedron pedig szintén 2015. január 1-től a Pszichotróp anyagok második (P2) jegyzékére. Az említett anyagok jogi szabályozása gyakorlatilag a „forgalmazás” megszűnését vonta maga után (33. ábra).



33. ábra A leggyakoribb új pszichoaktív stimulánsok éves megoszlása a mintákban (n = 856), és a jogi státuszban bekövetkezett változások: 2011: mefedron, 2012: MDPV, 2015: alfa-PVP és pentedron tiltólistás.

A 2016-tól megjelenő új stimulánsok jogi szempontból „Új pszichoaktív anyag” -nak minősülnek. Érdekes „fordulat”, hogy öt éves kihagyás után, 2019-ben a mefedron újra az egyik legnépszerűbb droggá vált a fogyasztók körében.

A hagyományos stimulánsok megoszlását az 34. ábra szemlélteti.



34. ábra Hagyományos stimulánsok évenkénti megoszlása a mintákban (n=658).

4.6.4. Új pszichoaktív stimulánsok posztmortem mintákban

A vizsgált minták 12,9%-a, 594 eset posztmortem mintavételből származott. Összesen nyolc mintában mutattunk ki új pszichoaktív stimulánst. A halál elsődleges okaként a szerhasználat egy esetben igazolódott (4,4'-dimetilaminorex). A többi esetben a halálokok a következők voltak: két esetben önkasztás, két esetben szén-monoxid mérgezés, egy esetben fulladás, egy esetben keringésösszeomlás és egy esetben kihülés. Három esetben pentedront (alkohollal együtt egy esetben, valamint amfetaminnal és MDMA-val együtt két esetben), két esetben mefedront (önmagában és amfetaminnal együtt) és két esetben N-etil-hexedront (egyedüli szerként) mutattunk ki.

4.6.5. Új pszichoaktív stimulánsok és egyéb szerek

A pozitív esetek (973) egy részében az új pszichoaktív stimulánsok mellett más szerek jelenlétét is igazoltuk. Egy új stimuláns volt az egyetlen hatóanyag az esetek 65%-ában, két vagy három új stimuláns az esetek 20%-ában. Hagyományos stimulánsokkal együtt egy új stimulánst a minták 11%-ában, 4%-ban kettő vagy több új stimuláns szerepelt a hagyományosok mellett. Benzodiazepineket (alprazolamot és clonazepamot) 135, THC-t 141 és kokaint 17 mintában azonosítottunk az új szerek mellett.

4.7. *Új eredmények összefoglalása, következtetések*

Az új pszichoaktív anyagok megjelenésének eredményeképpen mind az igazságügyi, mind a klinikai toxikológiában több kihívással kellett szembesülni: referencia anyagok hiánya (vagy azok meglehetősen magas ára), a biológiai mintákban igen kis mennyiségben jelen lévő erősen potens (sok esetben könnyen elbomló) szerek kimutatása komoly műszerezettséget és szaktudást igényel, az új anyagok kinetikai és dinámiás tulajdonságaira vonatkozó szakirodalmi adatok hiányosak vagy egyáltalán nem állnak rendelkezésre. A kimutatást nehezíti az eddig a kábítószeres kimutatásának szűrésére jól alkalmazható immunkémiai elven működő tesztek hasznavehetetlensége. A felsorolás folytatható továbbá a metabolitok kérdéskörével (pl. egy metabolit több anyavegyület anyagcsere terméke is lehet), illetve az anyavegyület kvantitatív azonosítása esetén a toxicitás/befolyásoltság mértékének megállapításának problémájával. Az értekezésben a felsorolt problémák egy részére próbáltunk megoldásokat keresni, illetve az értekezésben az új szerekkel történt kezdeti kutatások eredményeit, illetve az azokból levonható következtetéseket prezentáltuk;

1. bár számos, nem hivatalos forrásból származó ismeretlen szert tartalmazó pormintából azonosítottuk a hatóanyagot, a kvantitatív analízis a tiszta hatóanyagtartalom ismerete nélkül nem kivitelezhető, ezért a gyári standardok hiánya mai napig problémát jelent, különösen a klinikai toxikológiai laboratóriumok esetében,
2. a keresztreakciók vizsgálata során arra a következtetésre jutottunk, hogy a hagyományos kábítószeresre kifejlesztett immunkémiai tesztek (sem az immunoassay-k, sem a hasonló elven működő gyorsesztek) nem *alkalmasak* az új pszichoaktív anyagok kimutatására,
3. HPLC-DAD módszerrel az indol és indazol bázisú SZKRA vegyületek *metabolitjainak* vizeletben való történő detektálása a klinikai mintákban *igazolja a fogyasztás tényét*,
4. igazoltan új pszichoaktív stimuláns fogyasztók szérum mintáiban az *adrenalin* és a *dopamin* koncentrációi *szignifikáns* eltérést mutattak a kontroll csoporthoz képest,
5. az in vitro stabilitás vizsgálat elvégzése arra enged következtetni, hogy a vizeletben kimutatott hagyományos stimulánsok (amfetamin, MDMA) a *szobahőmérsékleten* történő hosszabb tárolási idő ellenére is stabilnak bizonyultak, ellentétben gyakorlatilag az összes vizsgált *új pszichoaktív anyaggal*, melyek esetén a *bomlás számottevő*,

6. a kábítószer trendek változása a kábítószer fogyasztási szokások módosulását vonja maga után, amit az elmúlt tíz évben előforduló új és hagyományos stimulánsok biológiai mintákban kimutatott gyakoriságának elemzésével támasztottunk alá regionális adatokkal.

5. Megbeszélés

Az elmúlt évtizedekben számos rekreációs új pszichoaktív anyagot szintetizáltak kémiai úton, mint a kokain, a THC és az amfetamin / metamfetamin legális alternatíváit. A globalizáció és a fejlett információs technológia lehetővé tette az új pszichoaktív szerek gyártásának és használatának gyors elterjedését az egész világon. Az internet kínálta lehetőségek felhívták a figyelmet az új anyagokra és megkönnyítették a szintézis módszereihez való hozzáférést. Ezeknek a vegyületeknek a kábítószerpiacokon való első megjelenése óta a nemzetközi kábítószer-ügynökségek / -központok (pl. az EMCDDA), az egyes nemzetek kormányai, a bűnüldöző szervek és a tudományos közösségek speciális stratégiákat vezettek be ezen anyagok beazonosítására, illetve a világszerte történő terjedésük visszaszorítására. Jelenleg több mint 60 ország frissítette a tiltott anyagok listáját, közülük sorolva számos új pszichoaktív anyagot. Sok nemzet (köztük Magyarország) vezette be a „generikus szabályozás” -t, ami az új vegyületek a már kontrollált anyagokkal való „kémiai hasonlóság” -án alapul. A jogi szabályozás szigorítása nem volt hiábavaló, egyrészt az EU Korai Figyelmeztető Rendszeréhez (EWS) először bejelentett új pszichoaktív anyagok számában, másrészt a lefoglalt mennyiségben is csökkenés volt tapasztalható.

Egy 1988-ban megjelent publikáció (Henderson GL., 1988) hátborzongató pontossággal a következőket jósolta a kábítószer-piac jövőbeli alakulásáról: „A jövő kábítószeri inkább szintetikus anyagok lesznek, mint növényi termékek. Könnyen hozzáférhető vegyületekből szintetizálják őket, gyógyszerek származékai lehetnek, nagyon hatásosak és ... nagyon okosan kerülnek forgalomba. A „Designer Drog” probléma nemzetközi problémává válhat. Egyetlen nagyon potens szer egy helyen történt szintézise után, az új anyag világszerte elosztóhelyekre kerül, ahol majd sok ezer, akár egymillió adag is piacra kerülhet...”

Napjainkban a kábítószer piacok jövőbeli alakulása sokkal nehezebben megjósolható. Az elmúlt években azonosított új anyagok innovációjának sebessége azokban a gazdaságilag fejlett országokban lassult, amelyek képesek a kábítószer felügyeletére. Ugyanakkor megváltozott néhány olyan jellemző, amely vonzóvá tette ezeket az anyagokat a kábítószer-használók számára, például a szintetikus kannabinoidok olcsóbb, hozzáférhetőbb és erősebb bódító szerként való fokozott használata egyre inkább a marginalizálódott lakosság körében jellemző. Az opioid és a benzodiazepin típusú anyagok egyre növekvő számban jelennek meg a kábítószer-piacon és mint új pszichoaktív anyagot önmagukban, vagy tiltott kábítószerekkel keverve kerülnek értékesítésre. Ez a helyzet olyan válaszleépéseket tesz szükségessé, amelyek

kevésbé koncentrálnak az új anyagok jogi helyzetére, hanem inkább a közegészségügyi eredmények javítására összpontosítanak (azaz a megelőzésre, a kezelésre és az ártalomcsökkentésre). Az új anyagok jövőbeni megjelenésétől, elérhetőségétől és használatától függetlenül az új szerek megjelenése óta bekövetkezett számos fejlemény befolyásolhatja a jövőbeni kábítószer-piacokat;

- a szabályozott anyagok legális alternatíváinak előállításának modellje már elterjedt a szintetikus kábítószer-előállítás területén. Az interneten keresztül történő megkönnyített hozzáférés a speciális ismeretekhez, felszerelésekhez és a szükséges vegyi anyagokhoz előrevetítheti a szintetikus kábítószerek dominanciáját és ezzel együtt az egyre nagyobb fenyegetést a meglévő kábítószer-ellenőrzési modellekre,
- továbbra is fennáll olyan erősen potens hatóanyagok szintézisének kockázata, amelyek a nem kívánt hatások miatt nagyobb egészségügyi kockázatot jelenthetnek,
- az interneten való terjesztés továbbra is a gyors terjedést segíti elő, nehezen szabályozható és ellenőrizhető módon.

A globalizáció, az internet és az információs technológia fejlődése ugyanakkor pozitív hatással lehet az új anyagokra történő reagálásra is, jobb lehetőségeket kínálva az új szerek korai felderítésére, valamint az információcserére, illetve a közegészségügyi reagálás és a kutatások prioritásainak meghatározására. Ehhez azonban szükség lehet a gondolkodásmódunk megváltoztatására; dinamikusabban és összetettebben kell reagálni a kábítószer-fogyasztási mintákra, mint ahogy azt a múltban tettük.

Egyelőre tehát úgy tűnik, hogy az új pszichoaktív szerek soha véget nem érő történetét éljük, ami számtalan kutatási téma lehetőségét hordozza magában. Munkacsoportunk jövőbeli kutatási céljai között szerepel az eddigi kutatások kiterjesztése nagyobb elemszám, több új anyag vonatkozásában, a biológiai mintákban lévő szintetikus kannabinoid receptor agonisták -tömegspektrometriás detektálást megközelítő érzékenységű- kimutatására történő módszer fejlesztése fluoreszcens detektorral kapcsolt ultra nagy nyomású folyadék kromatográfiával (UPLC/FLR) valamint HPLC-EC technikával vizelet szerotonin szint mérése SZKRA típusú drog fogyasztók („in life” és posztmortem) mintáiban az esetlegesen felmerülő szerotonin szindróma kialakulásának alátámasztására.

6. *Publikációk jegyzéke*

6.1. *Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények jegyzéke*

1. Lajtai Anikó, Mayer Matyas, Lakatos Agnes, Kuzma Mónika, Miseta Attila. (2020). New psychoactive versus conventional stimulants - a ten-year review of casework in Hungary. *Legal Medicine*. 47. 101780. 10.1016/j.legalmed.2020.101780. **IF: 1,195**
2. Mayer Matyas, Benkő, Andras, Huszar Andras, Sipos Katalin, Lajtai Anikó, Lakatos Agnes, Porpáczy, Zoltán. (2012). Simultaneous determination of 4-substituted cathinones (4-MMC, 4-MEC and 4-FMC) in human urine by HPLC-DAD. *Journal of chromatographic science*. 51. 10.1093/chromsci/bms183. **IF: 1,026**
3. David Hesszenberger, Aniko Lajtai, Matyas Mayer, Agnes Lakatos, Attila Miseta. (2020) The In Vitro Stability of Four New Psychoactive Substances in Urine Samples Stored At Different Temperatures. *J Forensic Toxicol Pharmacol* 2020, 9:2 doi: 10.37532/jftp.2020.9(1).167.

6.2. *Egyéb tudományos publikációk*

1. Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Miseta Attila. Embutramide, a component of Tanax® (T-61) as a new drug of abuse? *J. Forensic Sci*, March 2016, Vol. 61, No. 2. doi: 10.1111/1556-4029.13010. **IF: 1,127**
2. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Kuzma Mónika dr., Mayer Mátyás dr., Miseta Attila dr.. (2020) A paracetamolterápia és az idült májbetegség tragikus következményei. *Orv Hetil*. 2020; 161(40): 1720–1723. doi: 10.1556/650.2020.31752. **IF: 0,497**
3. Nagy C, Bajzik G, Skobrak A, Csorba E, Lajtai A, Balogh G, Nagy F, Vajda Z. Gyermekkori sporadikus hemiplegiás migrén arteria cerebri media hipoperfúzióval [Childhood sporadic type of hemiplegic migraine with arteria cerebri media hypoperfusion]. *Ideggyogy Sz*. 2017;70(9-10):343-348. doi:10.18071/isz.70.0343
4. Pogáts Rebeka, Péter István, Laufer Zsófia, Lajtai Anikó, Hollódy Katalin. Benzodiazepin-intoxikáció gyors diagnózisa elektroencefalográfia segítségével. *GYERMEKGYÓGYÁSZAT* 70: 6 pp. 434-438., 5 p. (2019)

5. Gábor Simon, M.D.; Veronika Heckmann, M.D.; Anikó Lajtai; Mátyás Mayer, PharmD; Mónika Kuzma, PharmD, PhD. (2020) Suicide by potassium infusion and review of the literature. Forensic Science Medicine and Pathology. (Under review) **IF: 1,61**

Összesített impakt: 5,455.

6.3. Előadások, poszterek

1. Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Benkő András, Lajtai Anikó, Huszár András, Kovács L. Gábor. A toxikológia szerepe egy különös öngyilkosság körülményeinek kiderítésében. TOX 2009 Galyatető október 14-16. (2009) Poszter
2. Porpáczy Zoltán, Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Benkő András, Kovács L Gábor, Huszár András. Kettős tűzhalál toxikológiai vonatkozásai. TOX' 2009 Galyatető október 14-16. (2009) Poszter
3. Benkő András, Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Porpáczy Zoltán, Huszár András. Amfetamin szerkezetű drogok. TOX' 2010, Galyatető 2010 okt.13-15. (2010) Poszter
4. Lajtai A, Lakatos Á, Porpáczy Z, Kovács L G. The incidence of illicitly abused drug cases in the clinical toxicological laboratory. p. 204. Laboratóriumi Medicina 2010. 35. évf. 3. szám MLDT55 Nagygyűlése, Pécs, 2010.08.26-28. (2010) Poszter
5. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Kovács L Gábor. Kábítószeres esetek előfordulása a klinikai toxikológiában. TOX' 2010, Galyatető 2010 okt.13-15. (2010) Poszter
6. Lakatos Á, Lajtai A, Porpáczy Z, Kovács L G. The use of hplc in the detection of new drug: mephedrone. pp. 194-195. Laboratóriumi Medicina 2010. 35. évf. 3. szám MLDT55 Nagygyűlése, Pécs, 2010.08.26-28. (2010) Poszter
7. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Porpáczy Zoltán, Montskó Gergely, Márk László, Kovács L Gábor. Az LC-MS alkalmazása a klinikai toxikológiai laboratóriumban. TOX' 2010, Galyatető 2010 okt.13-15. (2010) Előadás
8. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Porpáczy Zoltán, Szemelyácz János, Vass Koppány, Huszár András, Kovács L Gábor. Új designer drog kimutatása shimadzu TOX.I.S. rendszerrel. Farmakokinetikai és gyógyszermetabolizmus szimpózium Galyatető 2010. április 14-16. (2010) Előadás
9. Porpáczy Zoltán, Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Benkő András, Huszár András. Gázkromatográfiával kimutatható mérgező anyagok a klinikai és igazságügyi toxikológiában. TOX' 2010, Galyatető 2010 okt.13-15. (2010) Előadás

10. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Kovács L Gábor. A klinikai toxikológia jelentősége a sürgősségi betegellátásban. p. 48. Molsze XII. Nagygyűlése Bük, 2011. augusztus 27-29. (2011) Előadás
11. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Mayer M. A laboratóriumi toxikológiai vizsgálatok sürgőssége. p. 86. TOX' 2011 Sümeg 2011. október 12-14. (2011) Poszter
12. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Porpáczy Zoltán, Mayer M, Kovács L Gábor. Detection of new designer drugs of abuse in clinical toxicology by HPLC. THE DRUG MONIT 33: (4)483 (2011) Folyóiratcikk/Konferenciatickk kivonata
13. Schindler Réka, Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes. Tömegspektrometria alkalmazása a klinikai toxikológiában. E-27, 64. oldal, A Magyar Orvosi Laboratóriumi Szakdolgozók Egyesületének XII. Nagygyűlése, Bük, 2011. augusztus 25 -27. Előadás
14. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán. Mefedron után, designer drogok 2011. p. 62. TOX' 2011 Sümeg 2011. október 12-14. (2011) Előadás
15. Mayer Mátyás, Benkő András, Huszár András, Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Maász Gábor, Márk László, Porpáczy Zoltán. Katinon szerkezetű designer drogok mennyiségi és minőségi meghatározása hplc-dad módszerrel. TOX' 2011 Sümeg 2011. október 12-14 (2011) Poszter
16. Porpáczy Zoltán, Lajtai Anikó, Mayer M, Lakatos Ágnes. Benzodiazepin mérgezések. p. 90. TOX' 2011 Sümeg 2011. október 12-14. (2011) Poszter
17. Szabóné Tari Eleonóra, Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Kovács L Gábor. Immunkémiai módszerek alkalmazása a klinikai toxikológiában. p. 100. Molsze XII. Nagygyűlése 2011. Bük augusztus 27-29. (2011) Poszter
18. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Benkő András, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán, Kovács L. Gábor. Designer drog fogyasztás extrém esete. C3-6 Farmakokinetika és gyógyszermetabolizmus szimpózium 2012. április 18-20 (2012) Poszter
19. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Zrínyi Zita, Györgyi Erzsébet, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán, Kovács L. Gábor. Several designer drugs int he specimen of a chronic drug user. P59 MLDT 56. Nagygyűlése, Budapest, 2012. augusztus 30-szeptember 1. Poszter
20. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán, Kovács L. Gábor. Recreational drugs in clinical toxicology: new challenges in the everyday routine. P21-03 2nd EFLM-UEMS Congress Dubrovnik, 2012. október 10-13. Folyóiratcikk/Konferenciatickk kivonata
21. Lajtai Anikó, LakatosÁgnes, Benkő András, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán, Kovács L. Gábor. Gyorsteszt, immunoassay és hplc alkalmazhatósága a klinikai és igazságügyi

- toxikológiában. C4-5 TOX'2012 Tudományos Konferencia Hévíz, 2012. október 17-19.
Poszter
22. Mayer Mátyás, Könczöl Franciska, Benkő András, Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán. Mikroextrakciós eljárások összehasonlító vizsgálata designer drogok meghatározásához. C2-6 TOX'2012 Tudományos Konferencia Hévíz, 2012. október 17-19.
Előadás
23. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Benkő András, Porpáczy Zoltán. Kábítószeresek a klinikai toxikológiában 2012. C4-6 TOX'2012 Tudományos Konferencia Hévíz, 2012. október 17-19. Poszter
24. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Benkő András, Mayer Mátyás. Designer drogok keresztreakciói ABBOTT AxSYM Amfetamin II. (FPIA) reagenssel. E-36. MOLISZE XIII. Nagygyűlés, Siófok, 2013. szeptember 12-14. Előadás
25. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Mayer Mátyás, Benkő András, Porpáczy Zoltán. A magyarországi jogi szabályozás változásának hatása a klinikai és igazságügyi biológiai mintákban kimutatott designer drogok előfordulási gyakoriságára. TOX'2013 Tudományos Konferencia, Velence, 2013 október 16-18. Poszter
26. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán. Designer drogok a klinikai laboratóriumi toxikológiában. TOX'2013 Tudományos Konferencia, Velence, 2013 október 16-18. Előadás
27. Porpáczy Zoltán, Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Vass Imola, Mayer Mátyás, Könczöl Franciska. Állatorvosi euthanázia szer kimutatása humán biológiai mintából. TOX'2013 Tudományos Konferencia, Velence, 2013 október 16-18. Poszter
28. Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Mészáros Attila. Benzodiazepines in clinical laboratory toxicology. IFCC WORLDLAB ISTANBUL 2014, 22nd International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC Worldlab 2014) Poszter
29. Lakatos Ágnes, Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán. Pszichoaktív anyagok szerepe balesetekben. SE4.3. MLDT 57. Nagygyűlés, Nyíregyháza 2014. augusztus 28-30. Előadás
30. R. Schindler, Á. Lakatos, A. Lajtai, A. quantitative determination of psychotropic drugs in the serum of intoxicated patients by hplc. YF.5. MLDT 57. Nagygyűlés, Nyíregyháza 2014. augusztus 28-30. ClinChem Lab Med 2014; 52(9):eA: 62. if: 2,707 Előadás

31. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Mayer Mátyás. Benzodiazepinek minőségi és mennyiségi meghatározása. C4-8. TOX'2014 Tudományos Konferencia, Visegrád 2014. október 08-10. Poszter
32. Nagy Ágnes, Szekszárdiné Kovács Gabriella, Schindler Réka, Lajtai Anikó, Miseta Attila. Karbamazepin szint meghatározása sérumból, immunoassay vagy HPLC? A Magyar Orvosi Laboratóriumi Szakdolgozók Egyesületének XIV. Nagygyűlése; P-8. 60. oldal. Poszter
33. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Schindler Réka, Mayer Mátyás, Porpáczy Zoltán. Gyógyszeres öngyilkosságok alakulása Dél - Dunántúlon. P1-5, 11. oldal; TOX'2015, Harkány, 2015. október 14-16. Előadás
34. A. Lakatos, A. Lajtai, R. Szántó, M. Mayer, Z. Porpáczy. Acute alcohol poisonings in the clinical laboratory routine. SE3.2 Clin Chem Lab Med 2016; 54(10): eA: 167 if: 3,017(2015); MLDT 58. Nagygyűlés, Szeged, 2016. augusztus 25-27. Poszter
35. G. Far, A. Lakatos, A. Lajtai, R. Szántó, M. Mayer, Z. Porpáczy. Catecholamine measurements in the urine of drug users. P52, Clin Chem Lab Med 2016; 54(10): eA: 209 if: 3,017(2015); MLDT 58. Nagygyűlés, Szeged, 2016. augusztus 25-27. Előadás
36. R. Szántó, Á. Lakatos, A. Lajtai, M. Mayer, Z. Porpáczy. Drug level monitoring in clinical toxicology. SE7.4, Clin Chem Lab Med 2016; 54(10): eA: 175 if: 3,017(2015); MLDT 58. Nagygyűlés, Szeged, 2016. augusztus 25-27. Poszter
37. Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Szántó Réka, Porpáczy Zoltán, Mayer Mátyás, Miseta Attila. Kettős öngyilkossági kísérlet, háttérben alkohol- és dizájner drog dependencia (esetbemutató). C4-2. TOX'2016 Tudományos Konferencia, Hajdúszoboszló, 2016 október 12-14. Poszter
38. Mayer Mátyás, Lajtai Anikó, Lakatos Ágnes, Szántó Réka, Porpáczy Zoltán. Komló 2016...C4-3. TOX'2016 Tudományos Konferencia, Hajdúszoboszló, 2016. október 12-14. Poszter
39. Lajtai Anikó, Tóth Beáta, Szántó Réka, Mayer Mátyás, Lakatos Ágnes, Miseta Attila. Kis magyar „ÚPSZ” történelem, avagy egyes új pszichoaktív szerek tündöklése és bukása E-18. Magyar Laboratóriumi Szakdolgozók Egyesületének XV. Nagygyűlése, Szeged, 2017. augusztus 24-26. Előadás

7. Irodalomjegyzék

Adamowicz P, Malczyk A. Stability of synthetic cathinones in blood and urine. *Forensic Sci Int.* 2019 Feb;295:36-45. doi: 10.1016/j.forsciint.2018.12.001. Epub 2018 Dec 6. PMID: 30557825.

Adebamiro A, Perazella MA. Recurrent acute kidney injury following bath salts intoxication. *Am J Kidney Dis.* 2012 Feb;59(2):273-5. doi: 10.1053/j.ajkd.2011.10.012. Epub 2011 Nov 25. PMID: 22119408.

Al-Saffar Y, Stephanson NN, Beck O. Multicomponent LC-MS/MS screening method for detection of new psychoactive drugs, legal highs, in urine-experience from the Swedish population. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013 Jul 1;930:112-20. doi: 10.1016/j.jchromb.2013.04.043. Epub 2013 May 7. PMID: 23727875.

Bardo MT. Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit Rev Neurobiol* 1998;12:37–67. [PubMed: 9444481]

Baumann MH, Partilla JS, Lehner KR, et al. Powerful cocaine-like actions of 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV), a principal constituent of psychoactive 'bath salts' products. *Neuropsychopharmacology.* 2013;38(4):552-562. doi:10.1038/npp.2012.204

Baumann MH, Walters HM, Niello M, Sitte HH. Neuropharmacology of Synthetic Cathinones. *Handb Exp Pharmacol.* 2018;252:113-142. doi:10.1007/164_2018_178

Baumeister D, Tojo LM, Tracy DK. Legal highs: staying on top of the flood of novel psychoactive substances. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2015;5(2):97-132. doi:10.1177/2045125314559539

Bebarta VS, Ramirez S, Varney SM. Spice: a new "legal" herbal mixture abused by young active duty military personnel. *Subst Abus.* 2012;33(2):191-4. doi: 10.1080/08897077.2011.637610. PMID: 22489593.

Borek HA, Holstege CP. Hyperthermia and multiorgan failure after abuse of "bath salts" containing 3,4-methylenedioxypropylvalerone. *Ann Emerg Med.* 2012 Jul;60(1):103-5. doi: 10.1016/j.annemergmed.2012.01.005. Epub 2012 Mar 3. PMID: 22387085.

Busardo FP, Kyriakou C, Tittarelli R et al. Assessment of the stability of mephedrone in ante-mortem and post-mortem blood specimens. *Forensic Science International* 2015; 256:28-37.

Capriola M. Synthetic cathinone abuse. *Clin Pharmacol.* 2013;5:109-115. Published 2013 Jul 2. doi:10.2147/CPAA.S42832

Chen X. Simultaneous determination of four designer drugs and their major metabolites by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2015 Jun 15;992:1-7. doi: 10.1016/j.jchromb.2015.04.019. Epub 2015 Apr 20. PMID: 25939091.

Concheiro M, Castaneto M, Kronstrand R, Huestis MA. Simultaneous determination of 40 novel psychoactive stimulants in urine by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and library matching. *J Chromatogr A.* 2015 Jun 5;1397:32-42. doi: 10.1016/j.chroma.2015.04.002. Epub 2015 Apr 8. PMID: 25931378; PMCID: PMC4433760.

Davidson C, Opacka-Juffry J, Arevalo-Martin A, Garcia-Ovejero D, Molina-Holgado E, Molina-Holgado F. Spicing Up Pharmacology: A Review of Synthetic Cannabinoids From Structure to Adverse Events. *Adv Pharmacol.* 2017;80:135-168. doi:10.1016/bs.apha.2017.05.001

Diao X, Huestis MA. New Synthetic Cannabinoids Metabolism and Strategies to Best Identify Optimal Marker Metabolites. *Front Chem.* 2019;7:109. Published 2019 Mar 4. doi:10.3389/fchem.2019.00109

Eshleman AJ, Wolfrum KM, Hatfield MG, Johnson RA, Murphy KV, Janowsky A. Substituted methcathinones differ in transporter and receptor interactions. *Biochem Pharmacol.* 2013;85(12):1803-1815. doi:10.1016/j.bcp.2013.04.004

European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction and Europol (2019), EU Drug Markets Report 2019, Publications Office of the European Union, Luxembourg.

Fort C, Jourdan T, Jesse Kemp, Curtis B. Stability of Synthetic Cannabinoids in Biological Specimens: Analysis Through Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol.* 2017 Jun 1;41(5):360-366. doi: 10.1093/jat/bkx015. PMID: 28334817.

Gamage TF, Farquhar CE, Lefever TW, et al. Molecular and Behavioral Pharmacological Characterization of Abused Synthetic Cannabinoids MMB- and MDMB-FUBINACA, MN-18, NNEI, CUMYL-PICA, and 5-Fluoro-CUMYL-PICA. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2018 May;365(2):437-446. doi: 10.1124/jpet.117.246983.

Glicksberg L., Kerrigan S., Stability of Synthetic Cathinones in Urine, *Journal of Analytical Toxicology*, Volume 42, Issue 2, March 2018, Pages 77–87, doi: 10.1093/jat/bkx091

Glover, I. C. (1971) Prehistoric research in Timor. In: Mulvaney, D. J. & Golson, J., eds. *Aboriginal Man and Environment in Australia*, pp. 158–181. Canberra: Australian National University Press.

Green AR, King MV, Shortall SE, Fone KC. The preclinical pharmacology of mephedrone; not just MDMA by another name. *Br J Pharmacol.* 2014;171(9):2251-2268. doi:10.1111/bph.12628

Gunderson EW, Haughey HM, Ait-Daoud N, Joshi AS, Hart CL. “Spice” and “K2” herbal highs: a case series and systematic review of the clinical effects and biopsychosocial implications of synthetic cannabinoid use in humans. *Am J Addict.* 2012;21:320–6.

Hagan AO, Smith C (2017) A New Beginning: An Overview of New Psychoactive Substances. *Forensic Res Criminol Int J* 5(3): 00159. doi: 10.15406/frcij.2017.05.00159

Han DD, Gu HH. Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. *BMC Pharmacol.* 2006 Mar 3;6:6. doi: 10.1186/1471-2210-6-6. PMID: 16515684; PMCID: PMC1448202.

Henderson GL. Designer drugs: past history and future prospects. *J Forensic Sci.* 1988;33(2):569-575.

Hill SL, Thomas SH. Clinical toxicology of newer recreational drugs. *Clin Toxicol (Phila).* 2011 Oct;49(8):705-19. doi: 10.3109/15563650.2011.615318. Erratum in: *Clin Toxicol (Phila).* 2011 Nov;49(9):880. PMID: 21970769.

Hoyte CO, Jacob J, Monte AA, Al-Jumaan M, Bronstein AC, Heard KJ. A characterization of synthetic cannabinoid exposures reported to the National Poison Data System in 2010. *Ann Emerg Med.* 2012 Oct;60(4):435-8. doi: 10.1016/j.annemergmed.2012.03.007. Epub 2012 May 9. PMID: 22575211.

<https://www.chromsystems.com/products/biogenic-amines-all/catecholamines-in-plasma-hplc-5000.html>

<https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2018>

Janíková, B., Fidesová, H., Mioviský, M., Vavriněíková, L., Grund, J-P. C. (2016). New Psychoactive Substances among People Who Use Drugs Heavily in Europe. An inventory of changing drug consumption patterns, shifting drug markets and lagging policy responses. *Adiktologie*, 16(2), 92–105.

Johnson RD, Botch-Jones R: The stability of four designer drugs: MDPV, Mephedrone, BZP and TFMPP in three biological matrices under various storage conditions. *Journal of Analytical Toxicology* 2013; 37:51-55.

Johnson RD, Botch-Jones SR. The stability of four designer drugs: MDPV, mephedrone, BZP and TFMPP in three biological matrices under various storage conditions. *J Anal Toxicol.* 2013 Mar;37(2):51-5. doi: 10.1093/jat/bks138. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23325764.

Kalapos MP. 3,4-methylene-dioxy-pyrovalerone (MDPV) epidemic? *Orv Hetil.* 2011 Dec 11;152(50):2010-9.

Kathryn A. Seely, Paul L. Prather, Laura P. James, and Jeffery H. Moran .Marijuana-based Drugs: Innovative Therapeutics or Designer Drugs of Abuse? *Mol Interv.* 2011 Feb; 11(1): 36–51. doi: 10.1124/mi.11.1.6

Koob GF. Neural mechanisms of drug reinforcement. *Ann N Y Acad Sci* 1992;654:171–191. [PubMed: 1632582]

Kyle PB, Iverson RB, Gajagowni RG, Spencer L. Illicit bath salts: not for bathing. *J Miss State Med Assoc.* 2011 Dec;52(12):375-7. PMID: 22329114.

Lipiński PFJ, Kosson P, Matalińska J, et al. Fentanyl Family at the Mu-Opioid Receptor: Uniform Assessment of Binding and Computational Analysis. *Molecules.* 2019;24(4):740. Published 2019 Feb 19. doi:10.3390/molecules24040740

Locos O, Reynolds D. The characterization of 3,4-dimethylmethcathinone (3,4-DMMC). *J Forensic Sci.* 2012 Sep;57(5):1303-6. doi: 10.1111/j.1556-4029.2012.02142.x. Epub 2012 May 7. PMID: 22564211.

Majchrzak, M., Celiński, R., Kuś, P. et al. The newest cathinone derivatives as designer drugs: an analytical and toxicological review. *Forensic Toxicol* 36, 33–50 (2018). doi: 10.1007/s11419-017-0385-6

Manchester KR, Lomas EC, Waters L, Dempsey FC, Maskell PD. The emergence of new psychoactive substance (NPS) benzodiazepines: A review. *Drug Test Anal.* 2018 Jan;10(1):37-53. doi: 10.1002/dta.2211. Epub 2017 Jul 31. Erratum in: *Drug Test Anal.* 2018 Feb;10(2):392-393. PMID: 28471096.

Maskell PD, De Paoli G, Seneviratne C, Pounder DJ. Mephedrone (4-methylmethcathinone)-related deaths. *J Anal Toxicol.* 2011 Apr;35(3):188-91. doi: 10.1093/anatox/35.3.188. PMID: 21439157.

Moosmann, Bjoern & King, Leslie & Auwärter, Volker. (2015). Designer benzodiazepines: A new challenge. *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)*. 14. 248. 10.1002/wps.20236.

Murray KK. et al.: *Pure Appl Chem* 85 (2013), 1515-1609.

Partilla JS, Dempsey AG, Nagpal AS, Blough BE, Baumann MH, Rothman RB. Interaction of amphetamines and related compounds at the vesicular monoamine transporter. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319:237–246. [PubMed: 16835371]

Patil V, Tewari A, Rao R. New psychoactive substances: Issues and challenges. *J Mental Health Hum Behav* 2016;21:98-104

Paul M, Ippisch J, Herrmann C, Guber S, Schultis W. Analysis of new designer drugs and common drugs of abuse in urine by a combined targeted and untargeted LC-HR-QTOFMS approach. *Anal Bioanal Chem*. 2014 Jul;406(18):4425–41. doi: 10.1007/s00216-014-7825-5. Epub 2014 May 15. PMID: 24828977.

Peacock A, Bruno R, Gisev N, et al. New psychoactive substances: challenges for drug surveillance, control, and public health responses. *Lancet*. 2019;394(10209):1668-1684. doi:10.1016/S0140-6736(19)32231-7

Pifl C, Drobny H, Reither H, Hornykiewicz O, Singer EA. Mechanism of the dopamine-releasing actions of amphetamine and cocaine: plasmalemmal dopamine transporter versus vesicular monoamine transporter. *Mol Pharmacol* 1995;47:368–373. [PubMed: 7870046]

Prosser JM, Nelson LS. The toxicology of bath salts: a review of synthetic cathinones. *J Med Toxicol*. 2012 Mar;8(1):33-42. doi: 10.1007/s13181-011-0193-z. PMID: 22108839; PMCID: PMC3550219.

Reuter P, Pardo B. New psychoactive substances: Are there any good options for regulating new psychoactive substances? *Int J Drug Policy*. 2017 Feb;40:117-122. doi: 10.1016/j.drugpo.2016.10.020. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27889115.

Rothman RB, Baumann MH. Monoamine transporters and psychostimulant drugs. *Eur J Pharmacol* 2003;479:23–40. [PubMed: 14612135]

Schifano F, Papanti GD, Orsolini L, Corkery JM. Novel psychoactive substances: the pharmacology of stimulants and hallucinogens. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2016;9(7):943-954. doi:10.1586/17512433.2016.1167597

Schoeder CT, Hess C, Madea B, Meiler J, Müller CE. Pharmacological evaluation of new constituents of "Spice": synthetic cannabinoids based on indole, indazole, benzimidazole and carbazole scaffolds. *Forensic Toxicol.* 2018;36(2):385-403. doi:10.1007/s11419-018-0415-z

Scourfield, A., Flick, C., Ross, J. Wood, D. M., Thurtle, N., Stellmach, D. and Dargan, P. I. (2019) Synthetic cannabinoid availability on darknet drug markets—changes during 2016–2017, *Toxicology Communications*, 3(1), pp.7-15. doi:10.1080/24734306.2018.1563739

Seely KA, Lapoint J, Moran JH, Fattore L. Spice drugs are more than harmless herbal blends: a review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012 Dec 3;39(2):234-43. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.04.017. Epub 2012 Apr 26. PMID: 22561602; PMCID: PMC3936256.

Shanks KG, Dahn T, Behonick G, Terrell A. Analysis of first and second generation legal highs for synthetic cannabinoids and synthetic stimulants by ultra-performance liquid chromatography and time of flight mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 2012 Jul;36(6):360-71. doi: 10.1093/jat/bks047. Epub 2012 May 14. PMID: 22586208.

Shulgin, A. – Shulgin, A. (1991): PIHKAL - A Chemical Love Story. Transform Press, U.S.

Shulgin, A. – Shulgin, A. (1997):TIKHAL – The continuation. Transform Press, U.S.

Simmler LD, Buser TA, Donzelli M, et al. Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. *Br J Pharmacol.* 2013;168(2):458-470. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02145.x

Simmler LD, Rickli A, Schramm Y, Hoener MC, Liechti ME. Pharmacological profiles of aminoindanes, piperazines, and pipradrol derivatives. *Biochem Pharmacol.* 2014;88(2):237-244. doi:10.1016/j.bcp.2014.01.024

Soria ML. New psychoactive sub-stances: Risks and challenges. *Toxicol Forensic Med Open J.* 2017; 2(2): 39-40. doi: 10.17140/TFMOJ-2-117

Sullivan, R.J. – Hagen, E.H. (2002): Psychotropic substance-seeking: evolutionary pathology or adaptation? *Addiction*, 97, 389-400.

Sulzer D, Rayport S. Amphetamine and other psychostimulants reduce pH gradients in midbrain dopaminergic neurons and chromaffin granules: a mechanism of action. *Neuron* 1990;5:797–808. [PubMed: 2268433]

Thornton SL, Gerona RR, Tomaszewski CA. Psychosis from a bath salt product containing flephedrone and MDPV with serum, urine, and product quantification. *J Med Toxicol*. 2012 Sep;8(3):310-3. doi: 10.1007/s13181-012-0232-4. PMID: 22528592; PMCID: PMC3550171.

Turu G, Hunyady L. Signal transduction of the CB1 cannabinoid receptor. *J Mol Endocrinol*. 2010;44(2):75-85. doi:10.1677/JME-08-0190

Uddin MS, Sufian MA, Kabir MT, Hossain MF, Nasrullah M, et al. (2017) Amphetamines: Potent Recreational Drug of Abuse. *J Addict Res Ther* 8:330. doi:10.4172/2155-6105.1000330

Ujváry István. Az amfetamin-típusú drogok kultúrtörténete, kémiája, farmakológiája és toxikológiája, Ujváry István; *Psychiatria Hungarica*, 15. évf. 6. szám/2000., 641-687.

UNODC, Early warning advisory on new psychoactive substances, available at: <https://www.unodc.org/LSS/Page/NPS>, 2019 (Accessed 22 March 2019).

UNODC, Global Smart Update, Volume 14, 2015, Special Segment, Legal responses to NPS: Multiple approaches to a multi-faceted problem, www.unodc.org/documents/scientific/Global_SMART_Update_14-web.pdf

Vardakou I, Pistos C, Spiliopoulou Ch. Drugs for youth via Internet and the example of mephedrone. *Toxicol Lett*. 2011;201(3):191-195. doi:10.1016/j.toxlet.2010.12.014

Weaver MF, Hopper JA, Gunderson EW. Designer drugs 2015: assessment and management. *Addict Sci Clin Pract*. 2015;10(1):8. Published 2015 Mar 25. doi:10.1186/s13722-015-0024-7

Weir, S. (1985) *Qat in Yemen: Consumption and Social Change*. Dorset: Dorset Press

White FJ., Kalivas PW. Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. *Drug Alcohol Depend* 1998;51:141–153. [PubMed: 9716936]

Wood DM, Hunter L, Measham F, Dargan PI. Limited use of novel psychoactive substances in South London nightclubs. *QJM*. 2012 Oct;105(10):959-64. doi: 10.1093/qjmed/hcs107. Epub 2012 Jun 19. PMID: 22718853.

Zanda, M. T., L. Fattore, L. (2017). Novel psychoactive substances: A new behavioral and mental health threat. In R. R. Watson & S. Zibadi (Eds.), *Addictive substances and neurological disease: Alcohol, tobacco, caffeine, and drugs of abuse in everyday lifestyles* (p. 341–353). Elsevier Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-805373-7.00029-3

Zawilska JB, Andrzejczak D. Next generation of novel psychoactive substances on the horizon - A complex problem to face. *Drug Alcohol Depend.* 2015 Dec 1;157:1-17. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2015.09.030. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26482089.

Zawilska JB, Andrzejczak D. Next generation of novel psychoactive substances on the horizon - A complex problem to face. *Drug Alcohol Depend.* 2015;157:1-17. doi:10.1016/j.drugalcdep.2015.09.030

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom mindenkinek, aki az elmúlt években bármilyen módon segítséget nyújtott a kutatásaimmal kapcsolatban.

Köszönöm Dr. Miseta Attila Professzor Úrnak, hogy intézetünk vezetőjeként, illetve témavezetőként lehetővé tette számomra, hogy a témában kutassak.

Szeretném kifejezni hálámat Dr. Vassné Dr. Lakatos Ágnes docens asszonynak a több évtizedes szakmai iránymutatásért és töretlen bizalmáért, hogy mindvégig hitt bennem.

Köszönet illeti Dr. Mayer Mátyást és Dr. Kuzma Mónikát a közös munkákért, hasznos javaslataikért és szakmai támogatásukért, amivel nagymértékben hozzájárultak dolgozatom elkészültéhez.

Hálás vagyok közvetlen munkatársaimnak, Hesszenberger Dávidnak és Lelovics Vanesszának a gyakorlati munka kivitelezésében nyújtott segítségükért.

Végül köszönettel tartozom szüleimnek, fiamnak és páromnak a türelmükért, szüntelen támogatásukért, valamint, hogy biztosították számomra a dolgozat elkészítéséhez szükséges nyugodt légkört.



New psychoactive versus conventional stimulants - a ten-year review of casework in Hungary



Anikó Lajtai^{a,*}, Mátyás Mayer^b, Ágnes Lakatos^a, Mónika Kuzma^b, Attila Miseta^a

^a Department of Laboratory Medicine, Medical School, University of Pécs, H-7624 Pécs, Ifjúság str. 13., Hungary

^b Department of Forensic Medicine, Medical School, University of Pécs, H-7624 Pécs, Szigeti str. 12., Hungary

ARTICLE INFO

Keywords:

New psychoactive stimulants
Forensic toxicology
Pentedrone
N-ethylhexedrone

ABSTRACT

New psychoactive stimulants appeared in Hungary in 2010 as in several other European countries. We present our findings from cases where new psychoactive and conventional stimulants (we listed amphetamine, methamphetamine and MDMA as conventional drugs) have been detected in biological specimens between 2010

Abbreviations: 2C-E, 2,5-Dimethoxy-4-ethylphenethylamine; 2C-TFM, 2,5-Dimethoxy-4-(trifluoromethyl)phenethylamine; 2-MPA, 1-(thiophen-2-yl)-2-methylaminopropane; 3,4-CTMP, 3,4-Dichloromethylphenidate; 3,4-dimethoxy- α -PHP, 3,4-dimethoxy- α -Pyrrolidinohexanophenone; 3-Chloroephedrine, 3-Chloro-1-phenyl-2-(N-methyl)aminopropane; 3-CMC, 3-Chloromethcathinone, 1-(3-chlorophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone; 3-Fluorophenmetrazine, 2-(3-fluorophenyl)-3-methylmorpholine; 3-MMC, 3-Methylmethcathinone, 2-(methylamino)-1-(3-methylphenyl)-1-propanone; 4,4'-dimethylaminorex, 4-methyl-5-(p-tolyl)-4,5-dihydrooxazol-2-amine; 4-BMC, 4-Bromomethcathinone, 1-(4-bromophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone; 4-CDC, 4-chloro-N,N-dimethylcathinone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(dimethylamino)propan-1-one; 4-CEC, 4-Chloroethcathinone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(ethylamino)-1-propanone; 4-chloro- α -PVP, 4'-chloro- α -Pyrrolidinovalerophenone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone; 4-Cl-PPP, 4'-chloro- α -Pyrrolidinopropiophenone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-propanone; 4-CMC, 4-Chloromethcathinone, 1-(4-chlorophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone; 4-EMC, 4-Ethylmethcathinone, 1-(4-ethylphenyl)-2-(methylamino)propan-1-one; 4-FA, 4-Fluoroamphetamine, 1-(4-Fluorophenyl)propane-2-amine; 4-FEA, 4-fluoroethamphetamine, N-ethyl-4-fluoro- α -methyl-benzenethanamine; 4-fluoro-PHP, 4'-fluoro- α -Pyrrolidinohexanophenone, 1-(4-fluorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one; 4-FMC, 4-fluoromethcathinone, 1-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)propan-1-one; 4F-pentedrone, 1-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)pentan-1-one; 4F-PV9, 4'-Fluoro- α -pyrrolidinooctanophenone, 1-(4-fluorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)octan-1-one; 4-MA, 4-methoxyamphetamine, 1-(4-methoxyphenyl)propan-2-amine; 4-MC, 4-methylcathinone, 2-amino-1-(4-methylphenyl)-1-propanone; 4-MEC, 4-Methylethcathinone, 2-(ethylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-propanone; 4-methyl Pentedrone, 2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-pentanone; 4-methylbuphedrone, 2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-butanone; 4-methyl-N,N-DMC, 2-(dimethylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-propanone; 4-methyl-TMP, 4-Methylmethylphenidate, methyl (2R)-2-(4-methylphenyl)-2-[(2R)-piperidin-2-yl]acetate; 5-BPDI, 1-(2,3-Dihydro-1H-inden-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one; 5-DBFPV, 1-(2,3-Dihydrobenzofuran-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one; alpha-PBP, α -Pyrrolidinobutiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-butanone; alpha-PHP, α -Pyrrolidinohexiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-hexanone; alpha-POP, PV9, alpha-pyrrolidinooctanophenone, 1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)octan-1-one; alpha-PPP, α -Pyrrolidinopropiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-propanone; alpha-PVP, α -Pyrrolidinopentiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone; alpha-PVT, α -Pyrrolidinopentiophenone, 2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(thiophen-2-yl)pentan-1-one; amphetamine, 1-phenylpropan-2-amine; AMT, α -methyltryptamine, α -methyl-1H-indole-3-ethanamine; BMDP, Benzylone, 3,4-methylenedioxy-N-benzylcathinone; buphedrone, 2-(methylamino)-1-phenyl-1-butanone; butyl-hexedrone, 2-(butylamino)-1-phenyl-1-hexanone; dibutylone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(dimethylamino)-1-butanone; dipentylone, N,N-Dimethylpentylone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(dimethylamino)-1-pentanone; ethyl-heptedrone, 2-(ethylamino)-1-phenylheptan-1-one, eutylone, N-Ethylbutylone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(ethylamino)-1-butanone; MDMA, 3,4-Methylenedioxyamphetamin; MDPHP, 3',4'-Methylenedioxy- α -pyrrolidinohexiophenone; MDPV, 1-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone;mephedrone, 2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)propan-1-one; metamphetamine, N-methyl-1-phenylpropan-2-amine; methamnetamine, N-methyl-1-(naphthalen-2-yl)propan-2-amine; methoxetamine, MXE, 2-(ethylamino)-2-(3-methoxyphenyl)cyclohexanone, 2-(ethylamino)-2-(3-methoxyphenyl)cyclohexanone; methyl-MMDA-2, N-Methyl-2-methoxy-4,5-methylenedioxyamphetamine, N-methyl-1-(6-methoxy-1,3-benzodioxol-5-yl)propan-2-amine; methylone, 3,4-methylenedioxy-N-methylcathinone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)-1-propanone; mexedrone, 3-methoxy-2-(methylamino)-1-(p-tolyl)propan-1-one; MMMP, MMTMP, 2-methyl-4'-(methylthio)-2-Morpholinopropiophenone, 2-methyl-1-(4-(methylthio)phenyl)-2-morpholinopropan-1-one; MPHP, 4'-Methyl- α -pyrrolidinohexiophenone, 2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(p-tolyl)hexan-1-one; N-butyl Pentylone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(butylamino)-1-pentanone; N-ethyl Pentedrone, 2-(ethylamino)-1-phenyl-1-pentanone; N-ethylbuphedrone, 2-(ethylamino)-1-phenylbutan-1-one; N-ethyl-pentylone, N-ethylamino-Hexanophenone, 2-(ethylamino)-1-phenyl-1-hexanone; pentylone, 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(ethylamino)-1-pentanone; NM-2AI, N-methyl-2-aminoindane, 2,3-dihydro-N-methyl-1H-inden-2-amine; pentedrone, 2-(methylamino)-1-phenyl-1-pentanone; PV8, alpha-PHP, α -Pyrrolidinohexiophenone, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-heptanone; TH-PVP, 3',4'-tetramethylene- α -Pyrrolidinoovalerophenone, 2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)pentan-1-one

* Corresponding author.

E-mail addresses: lajtai.aniko@pte.hu (A. Lajtai), matyas.mayer@aok.pte.hu (M. Mayer), lakatos.agnes@pte.hu (Á. Lakatos), munka.kuzma@aok.pte.hu (M. Kuzma), attila.miseta@aok.pte.hu (A. Miseta).

<https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2020.101780>

Received 24 April 2020; Received in revised form 22 July 2020; Accepted 18 August 2020

Available online 26 August 2020

1344-6223/ © 2020 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

N-ethylpentylone, N-butylpentylone, N-ethylheptedrone

and 2019.

Materials: Biological samples (including urine, blood and body tissues), sent to the Department of Forensic Medicine, University of Pécs, South-West Hungary, in the period 2010–2019.

Method: High performance liquid chromatography coupled with diode array detection (HPLC-DAD); supercritical fluid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (SFC-MS/MS).

Results: During the nine-year period between 2010 and 2019, we found new stimulants in 973 (21.1%) cases, and conventional stimulants in 658 (14.2%) cases (out of 4604 analyses – 100% of samples sent to the laboratory for toxicology screening). 594 (12.9%) of all cases were post mortem analyses. The new drugs we've detected could be classified into three groups based on their chemical structure: cathinones (in 960 from our cases), substituted phenethylamines (8), and tryptamines (5). The most frequently identified new psychoactive stimulants were (in the order of decreasing frequency): pentedrone (262), mephedrone (188), N-ethylhexedrone (126), methylenedioxypropylvalerone (MDPV; 98), α -pyrrolidinopentiphenone (alpha-PVP; 93), 4-CMC (35).

Conclusion: The new substances were detected in highest proportion in 2011; by 2018, the number of conventional drugs exceeded the new stimulants in our cases. According to the data of the Hungarian seizures, the decrease was predictable: from 2015, the seizures of traditional stimulants exceeded the seizures of new stimulants. In 2019 the new stimulants were dominated again among the detected substances in the samples.

New psychoactive substances (NPS, designer drugs, research chemicals, potpourri, herbals, bath salts, plant food, etc.) have shown an alarming boost in popularity in the last few years and rate as one the most common substances of abuse. The easy access to the new substances (through online trade), their similar psychoactive effects to those of the conventional drugs, their much lower price and the fact that they are legal led to the 'revolution' of drugs. Both the drug market and the type of the drugs preferred by the users have dramatically changed; conventional drugs have become less popular, they have been replaced by the new substances with extraordinary variability. Only small changes in single molecules by chemists or scientists can make a formerly illegal drug legal again. Due to the growing threat of new designer drugs, governments all over the world are constantly banning their importation, sale, and use. The dangers of new psychoactive substances, their acute and chronic health effects, and the increasing use of "legal highs" are known by authorities but the ban of newly created synthetic drugs is an ongoing fight between chemists and law enforcement agencies. In 2010, 41 different NPS were reported to the European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). In the following years, 48 (2011), 74 (2012), 81 (2013), 101 (2014), 98 (2015), 66 (2016) and 51 (2017) NPS were recorded. As is clear from the reports of this organization, in the period 2010–2017, over 550 NPS were detected on the European drug market. China remains the major source country for NPS, India is also an important source of some NPS, but a small number of illicit laboratories have also been detected in European countries such as the Netherlands and Poland, usually producing synthetic cathinones [1]. According to the data of the European seizures, the synthetic cathinones and synthetic cannabinoids together

accounted for over 60% of all seizures of new substances in 2015 and 80% in 2016 [23].

At national level, various measures have been taken to control new substances, and three broad types of legal responses can be identified. Many countries in Europe first responded by implementing consumer safety legislation, and subsequently extended or adapted existing drug laws to incorporate new psychoactive substances. Increasingly, countries have created specific new legislation to address this phenomenon. Fundamentally, three methods exist in the EU to regulate NPS. The individual list regulation (which is the most widespread based on UN treaties) puts the exactly identified substance or group of substances on the list in standard, extraordinary or accelerated way. In the generic regulation, the substance group (the base formula) and its derivatives are also included in the list. Besides the United Kingdom and Ireland, Hungary applies this regulation as well. The analogue regulation is based on chemical and/or biological similarity (USA, Latvia, and Norway) [4].

The new psychoactive substances can be classified based on their psychotropic effects as depressants, stimulants and/or hallucinogens [5]. The stimulant and/or hallucinogen type of NPS can be classified according to their chemical family as substituted phenethylamines, piperazines, tryptamines, synthetic cathinones and arylcyclohexylamine [6 7].

In Hungary, mephedrone was the first widely used NPS in 2010, which was the "year of mephedrone". In 2011, mephedrone was already banned, but 'legal highs' were still available from webshops and drug dealers. Hungary was then one of the European countries in which the greatest number of NPS is confiscated [8]. The aim of this paper is

Table 1

The analysed substances and their LLOQ by SFC-MS/MS.

Name	LLOQ (ng/ml)	Name	LLOQ (ng/ml)	Name	LLOQ (ng/ml)	Name	LLOQ (ng/ml)	Name	LLOQ (ng/ml)
2C-E	5	4-CMC	5	5-BPDI	5	eutylone	5	N-butylpentylone	5
2C-TFM	5	4-EMC	5	5-DBFPV	5	isopropylphenidate	5	N-ethylbuphedrone	5
2-MPA	5	4-fluoro-PHP	5	alpha-PBP	5	MDPHP	5	N-ethylheptedrone	5
3,4-CTMP	5	4-FMC	5	alpha-PHP	5	MDPV	5	N-ethyl-hexedrone	5
3-CMC	5	4F-pentedrone	5	alpha-POP	5	mephedrone	5	N-ethylpentedrone	5
3F-phenmetrazine	5	4-FA	5	alpha-PPP	5	MDMA	5	N-ethylpentylone	5
3,4-dimethoxy- α -PHP	5	4-FEA	5	alpha-PVP	5	MDPHP	5	NM-2AI	5
3-Chloroephedrine	5	4F-PV9	5	alpha-PVT	5	metamphetamine	50	pentedrone	5
3-MMC	5	4-MA	5	amphetamine	50	methamnetamine	5	pentylone	5
4,4'-dimethylaminorex	5	4-MC	5	AMT	5	methoxetamine	5	propylphenidate	5
4-BMC	5	4-MEC	5	BMDP	5	methyl-MMDA-2	5	PV8 (alpha-PHPP)	5
4-CDC	5	4-methyl-pentedrone	5	buphedrone	5	methylone	5	TH-PVP	5
4-CEC	5	4-methylbuphedrone	5	butyl-hexedrone	5	mexedrone	5		
4-chloro- α -PVP	5	4-methyl-N,N-DMC	5	dibutylone	5	MMMP	5		
4-Cl-PPP	5	4-methyl-TMP	5	dipentylone	5	MPHP	5		

to evaluate the analyses of the presence of new and traditional stimulants in biological specimens (mainly urine).

1. Materials and method

Samples: Biological materials (including urine, blood, liquor and body tissues) sent to the Department of Forensic Medicine, University of Pécs, South-West Hungary (Baranya County; total area: 4429 km², total population: ~360704 inhabitants) in the period between 2010 and 2019, together with the provisions of police and prosecutors to carry out toxicological analysis for the presence of psychoactive substances were included in this study. Most of the relevant cases concerned possession of drugs (81.5%), driving under the influence (2.9%), drug trafficking (2.7%), as well as post mortem cases (12.9%) including fatal intoxication. We examined eight type of samples: 4194 urine, 370 blood extract, 22 liver extract, 13 bile extract, 3 liquor, 1 stomach extract, 1 spleen extract and 1 kidney extract.

Standards and reagents: 72 stimulant substances were analysed by HPLC and SFC-MS/MS, the lower limits of quantification (LLOQ) of the confirmatory analytical method were 5–50 ng/ml (Table 1.). Certified reference standards (amphetamine, MDMA and MDA) were sourced from Lipomed (Lipomed AG, Switzerland) and we used NPS standards

sourced from the Hungarian Institute for Forensic Sciences (HIFS) (seized materials previously analysed by GC-MS, ATR/FT-IR, HPLC and qNMR). Other chemicals used were of the adequate purity (HPLC grade) for carrying out analyses.

Analytical methods: high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with diode array detection (Shimadzu TOX.I.S. II. HPLC-DAD). The extraction column (Strata-X On-Line Extraction Cartridge) and the analytical column with guard cartridges (Gemini-NX 3u C18 110A, 5 µm) were obtained from Phenomenex (Aschaffenburg, Germany).

N-ethylxazepam was used as internal standard [9]. We used supercritical fluid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (SFC-MS/MS) for confirmatory examination. After salting-out, assisted liquid-liquid microextraction measurements were performed by an ACQUITY UPC2 supercritical fluid chromatography system (Waters) coupled with a Xevo TQ-S Triple Quadrupole Mass Spectrometer (Waters). Data were recorded by MassLynx software (V4.1 SCN950) and evaluated by TargetLynx XS software. Separation of compounds was performed on a 3.0 mm × 100 mm, 1.7 mm particle size, ACQUITY UPC2 BEH analytical column (Waters). The mobile phase was the mixture of carbon dioxide and 30 mM ammonium hydroxide (A), and 15 mM acetic acid in methanol (B) with flow rate of 1.5 mL/min. The

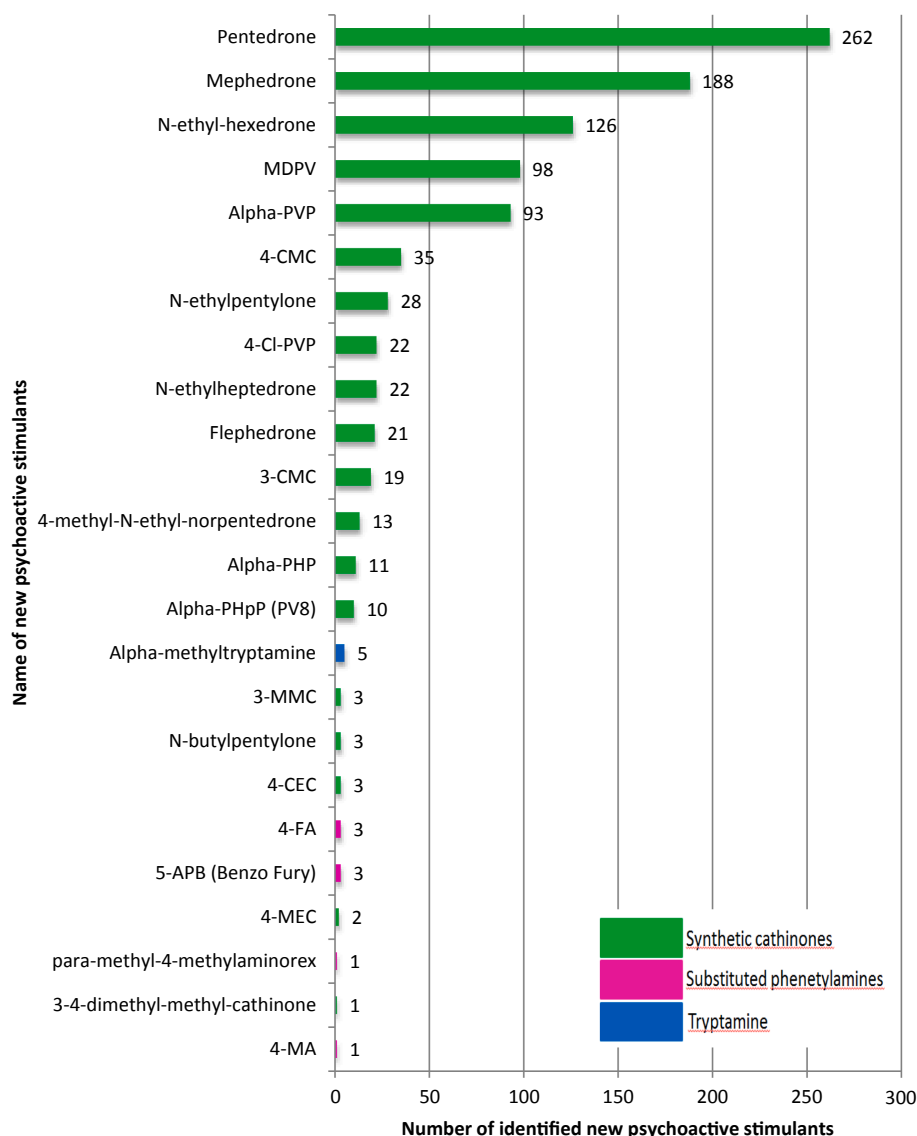


Fig. 1. The number of identifications of different new psychoactive stimulants in samples (N = 973).

following gradient profile was used: 99.9% A at 0.0 min and 68.0% A at 8 min. A pre-equilibration period lasting for 2.5 min was applied before each injection. Constant 200 bar back pressure was used to maintain the supercritical state. The temperature was set to 45 °C and the volume of injection was 1.5 µL. To sustain a suitable electrospray, additional solution consisted of 5 mM acetic acid in methanol was applied with flow rate of 0.15 mL/min. This makeup solvent was delivered by a Waters 515 HPLC Pump. The MS measurement was performed in positive ion mode. The ESI source was operated with a spray voltage of 3.00 kV, cone voltage was 30 V. The source was set to 150 °C. Both desolvation and cone gases were nitrogen delivered at 300 and 150 L/min, respectively. The temperature of the desolvation gas was 300 °C. Collision gas was argon with flow rate of 0.13 mL/min. MS/MS experiments were performed in MRM (multiple reaction monitoring) mode, monitoring three fragments with optimal collision energies.

2. Results

Drug frequency: during the ten years, we could identify new psychoactive stimulants altogether in 973 cases (21.1%) out of all the analyses of samples sent to the laboratory for toxicology screening (4604 cases-100%). Regarding their chemical structure, synthetic cathinones (pentedrone, mephedrone, alpha-PVP, MDPV, N-ethylhexedrone, N-ethylpentylone etc.) were the most popular ones (98.66%), followed by phenethylamines (4-fluoroamphetamine, 4-methylamphetamine, 5-(2-aminopropyl)benzofuran; 0.83%), and finally a tryptamine derivative (alpha-methyltryptamine; 0.51%) (Fig. 1.).

New psychoactive stimulants in post mortem cases: 12.9% (594) of all cases were post mortem analyses. We found new psychoactive stimulants in eight cases of them. In one case, the drug was the primary cause of death, in the other cases drugs caused indirect deaths. The causes of the indirect deaths were the following: fatal hangings (2), carbon monoxide poisoning (2), drowning (1), circulatory failure (1), hypothermia (1), and fatal intoxication (1). The most prevalent new stimulant was pentedrone (with alcohol in one case, and with amphetamine and MDMA in two cases), followed by mephedrone (alone in one, with amphetamine in another case), N-ethylhexedrone (alone in two cases) and 4,4'-dimethylaminorex (alone in one case-fatal intoxication).

It is important to highlight 4,4'-dimethylaminorex ('Serotoni') in the substituted phenethylamine group, which was identified only in one case (post mortem) in our laboratory, but it was responsible for five deaths in July-August 2013 in the whole of Hungary.

The annual distributions of the most common new psychoactive stimulants (Fig. 2.) and the conventional stimulants (Fig. 2.2.): the most

common new psychoactive stimulants in 2010 was mephedrone, in 2011 were mephedrone and MDPV, in 2012 was pentedrone, in 2013 was pentedrone again. In 2014–15, beside pentedrone, alpha-PVP was detected in the highest number. Similar trends were observed in South-East Hungary between 2010 and 2015 [10]. The main reason for the appearance and then disappearance of new psychoactive stimulants is the change in their legal state. According to Hungarian law, from 01 January 2011, mephedrone, from 01 January 2012 MDPV, from 01 January 2015 alpha-PVP and pentedrone have been defined as illicit drugs in the criminal law. N-ethylpentylone, N-ethylhexedrone, 4-methyl-N-ethyl-norpentedrone and 4-Cl-PVP, which appeared in 2016 and showed an increasing trend in 2017, have been defined as 'New Psychoactive Substances'. The list of 'New Psychoactive Substances' was created in Hungary in April 2012. 'New Psychoactive Substances' includes all new psychoactive stimulants and other chemicals with pronounced psychotropic effects that structurally do not fit into well-established drug categories from April 2012 [10]. This category is penalized less strictly than that of the illicit drugs. In 2019 mephedrone returned to the Hungarian illicit drug market again and in many cases we could detect 4-CMC and N-ethylheptedrone as new psychoactive stimulants. (The legal classification of the latter two stimulants is: 'New Psychoactive Substances'.) Out of the traditional stimulants we listed amphetamine, methamphetamine and MDMA as conventional drugs (n = 658), the number of MDMA usages has continuously increased.

The annual distributions of the new and conventional psychoactive stimulants: in the examined time period we could identify stimulating substances in 1631 cases in the samples. Conventional stimulants were detected in 40% of the samples (n = 658), the others were new psychoactive stimulants (n = 973) (Fig. 3.). The decreased presence of the new stimulants in the samples after/from 2014 was predictable, according to the stimulants seizures in our country (Fig. 4.). Contrary to seizures data, the proportion of new stimulants were higher again in the samples in 2019 (the official drug seizure statistics for 2019 are not yet available).

New psychoactive stimulants and other drugs: in many of our cases, we revealed the presence of more than one new psychoactive stimulant, or the presence of new stimulants together with conventional drugs, like amphetamines, cannabinoids, cocaine, and benzodiazepines. One new stimulant was the sole agent in 65% of all the positive cases (973), and two or more new stimulants were present in 20% of cases. One new psychoactive stimulant with other conventional stimulants were detected in 11%, two or more new stimulants with other conventional stimulants were present in 4% of the cases. Benzodiazepines (alprazolam or clonazepam) were found in 135 samples (13.8%), THC or

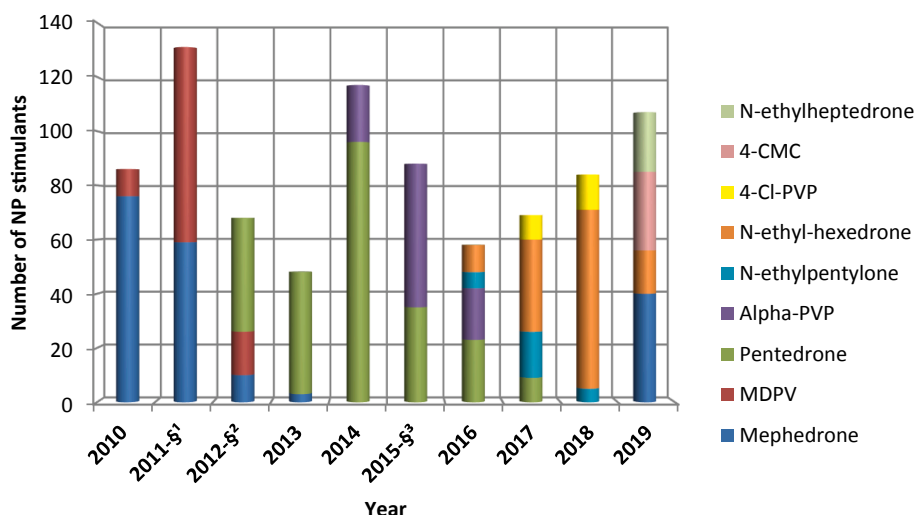


Fig. 2.2. Annual division of the conventional stimulants in samples (n = 658).

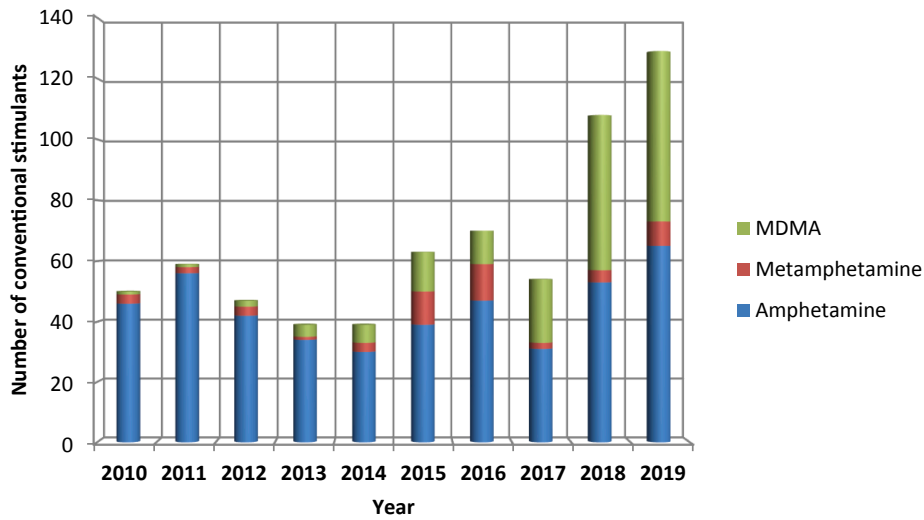


Fig. 2. Annual division of the most common new psychoactive stimulants in samples (n = 856). §¹: mephedrone became illegal; §²: MDPV became illegal, §³: alpha-PVP and pentedrone became illegal.

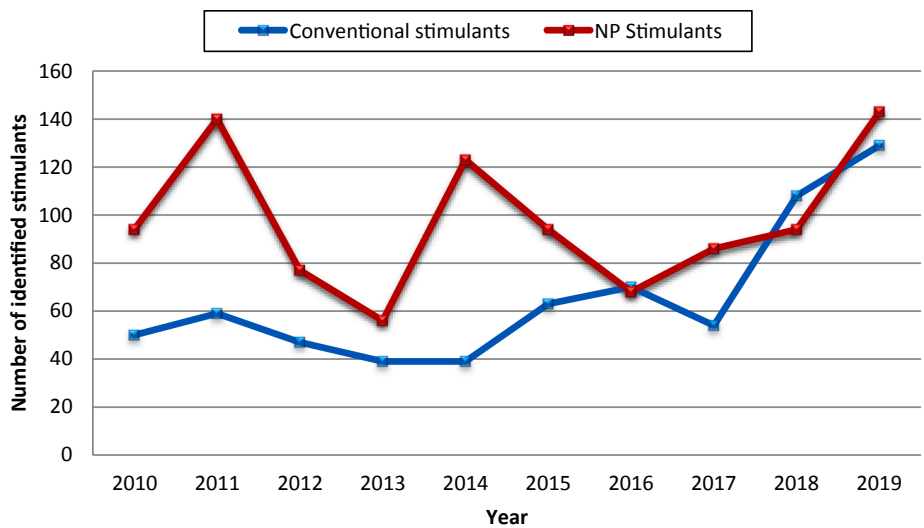


Fig. 3. The annual division of the new and conventional psychoactive stimulants in samples.

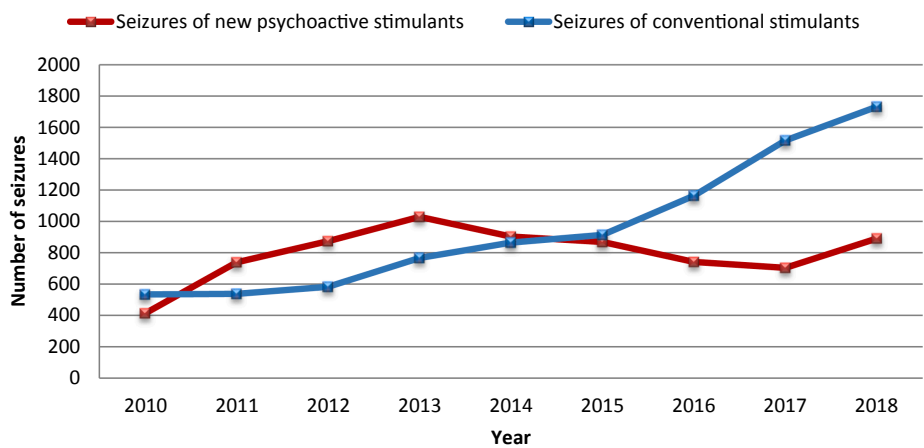


Fig. 4. The annual division of seizures of new and conventional psychoactive stimulants according to HIFS (Hungarian Institute for Forensic Sciences) data.

THCCOOH in 141 samples (14.5%), and cocaine in 17 samples (1.74%) in addition to new psychoactive stimulants.

3. Discussion

The improvement in informational technology and globalisation greatly contributed to the worldwide spreading of new psychoactive stimulants. The popularity of various new stimulants is changing over time. Their appearance/ disappearance on drug markets and in the human samples greatly depend on the changes in law.

In the European Union, the number of seizures of synthetic cathinones was the highest in 2015. In the following years the number of seizures decreased compared to the previous years [11]. The quantity of amphetamine seized in the European Union has increased in 2015, the number of seizures and quantity of methamphetamine seized shown an upward trend too [12]. The number of reported MDMA seizures in the European Union has been on an upward trend since 2010. In 2017 the 6.6 million reported seized MDMA tablets was the highest number in the European Union since 2007 [13]. These trends were similar in Hungary as well. In the past ten years, the most commonly detected new stimulants in Hungary were cathinone derivatives. In our country, the incidence of these substances detected in biological materials decreased from 2014/2015 to 2018, but in 2019 started to rise again. The monitoring of NPS prevalence needs to be continued combined with the reporting of clinical effects, to help the work of toxicologists and clinicians worldwide in diagnosing and treating patients potentially affected by some stimulant drugs.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

- [1] [EU Drug Markets Report, EMCDDA, Europol, Lisbon, November, 2019, p. 2019.](#)
- [2] European Drug Report 2018: Trends and Developments, EMCDDA, Lisbon, June 2018, www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2018_en.
- [3] European Drug Report 2017: Trends and Developments, EMCDDA, Lisbon, June 2017, www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2017.
- [4] UNODC, Global Smart Update, Volume 14, 2015, Special Segment, Legal responses to NPS: Multiple approaches to a multi-faceted problem, www.unodc.org/documents/scientific/Global_SMART_Update_14-web.pdf.
- [5] What's So 'New' About New Psychoactive Substances? Definitions, prevalence, motivations, user groups and a proposed new taxonomy. Fiona Measham & Russell Newcombe, Chapter 33 in Kolind, T., Thom, B. and Hunt, G., (ed.s), (2016), *The SAGE Handbook of Drug & Alcohol Studies: Social Science Approaches*, Sage, pp. 576-596.
- [6] Neuropharmacology of New Psychoactive Substances (NPS): Focus on the Rewarding and Reinforcing Properties of Cannabimimetics and Amphetamine-Like Stimulants. Cristina Miliano, Giovanni Serpelloni, Claudia Rimondo, Maddalena Mereu, Matteo Marti, and Maria Antonietta De Luca. *Front Neurosci.* 2016; 10: 153. Published online 2016 Apr 19. doi: 10.3389/fnins.2016.00153.
- [7] Fatal Intoxication with a-PVP, a Synthetic Cathinone Derivative. Barbara Potocka-Banas, Ph.D.; Tomasz Janus Ph.D.; Sławomir Majdanik M.D., Ph.D.; Tomasz Banas LL.M.; Teresa Dembinska Ph.D.; and Krzysztof Borowiak Ph.D. *J Forensic Sci*, March 2017, Vol. 62, No. 2 doi: 10.1111/1556-4029.13326.
- [8] New psychoactive substances in Europe. An update from the EU Early Warning System European Monitoring Centre for Drugs and Drug Abuse (EMCDDA), Lisbon, March 2015. Available at http://www.emcdda.europa.eu/publications/rapid-communications/2015/new-psychoactive-substances_en.
- [9] Embutramide, a component of Tanax® (t-61) as a new drug of abuse? Lajtai Anikó, Mayer Mátyás, Lakatos Ágnes, Porpáczy Zoltán, Mészáros Attila. *J. Forensic Sci*, March 2016, Vol. 61, No. 2. doi: 10.1111/1556-4029.13010.
- [10] Changes in illicit, licit and stimulant designer drug use patterns in South-East Hungary between 2008 and 2015. Árok Z, Csesztregi T, Sija É, Varga T, Kereszty ÉM, Tóth RA, Institóris L. *Leg Med (Tokyo)*, 2017 Sep; 28:37-44. doi: 10.1016/j.legalmed.2017.07.001.
- [11] EU Drug Markets Report 2019. http://www.emcdda.europa.eu/publications/joint-publications/eu-drug-markets-report-2019_en.
- [12] European Drug Report 2017. http://www.emcdda.europa.eu/edr2017_en.
- [13] European Drug Report 2019. http://www.emcdda.europa.eu/edr2019_en.

Simultaneous Determination of 4-Substituted Cathinones (4-MMC, 4-MEC and 4-FMC) in Human Urine by HPLC–DAD

Mátyás Mayer^{1*}, András Benkő¹, András Huszár¹, Katalin Sipos¹, Anikó Lajtai², Ágnes Lakatos² and Zoltán Porpáczy¹

¹Institute of Forensic Medicine, University of Pécs, H-7624 Pécs, Szigeti str. 12., Hungary, and ²Institute of Laboratory Medicine, University of Pécs, H-7624 Pécs, Szigeti str. 12., Hungary

*Author to whom correspondence should be addressed. Email: matyas.mayer@aok.pte.hu

Received 26 July 2012; revised 17 September 2012

This study developed a selective and rapid high-performance liquid chromatography–diode array detection method for the confirmation of different cathinone derivates in human urine. Samples were prepared by solid-phase extraction (SPE) using procaine hydrochloride as the internal standard. The chromatographic separation was performed on a Kinetex PFP column using isocratic elution. The mobile phase was composed of a mixture of acetonitrile (33%, v/v) and 0.005M ammonium trifluoroacetate buffer (67%, v/v; pH 4.93 ± 0.03) with a flow rate of 0.350 mL/min. The diode array detection was performed at 262 nm. The method was linear over the concentration range of 25–2,400 ng/mL. Intra-day and inter-day precision values for cathinones were less than 1.26% (relative standard deviation). The limit of detection for any compounds extracted from human urine by the optimized SPE method was 40 ng/mL and the limit of quantification was 100 ng/mL in the urine.

The recovery rate of SPE was between 71 and 82% with a lower relative standard deviation than 2.35%.

Introduction

In addition to the traditional illicit drugs, newly designed or recently discovered natural drugs often appear among drug users, and are spreading explosively. Because legal regulations cannot keep up with these new drugs, their use is rapidly increasing (1). One of these drugs is mephedrone (4-methylmethcathinone, 4-MMC) which is a synthetic derivate of cathinone found in the shrub *Catha edulis*. Its effects are similar to those of the traditional ecstasy (3,4-methylenedioxy-*N*-methylamphetamine, MDMA): it stimulates the central nervous system (2), inhibits the reuptake of monoamine neurotransmitters and increases their release (3). It is advertised and sold on the internet as a plant nutrient. In the case of traditionally abused drugs, it is very rare that users require emergency medical care. On the contrary, this event can be observed much more often after the use of these emerging designer drugs (4–6) because of the lack of the abusers' experience. Neither rapid immunological tests nor medical experience can help the diagnosis of the administration of designer drugs. The abuser's statements in toxicology cases are often unreliable; patients do not reveal any relevant information about the abused drugs (7), or the information is useless because designer drugs are called by fancy names and one substance may have several names. Because of these factors, the role of the toxicology laboratory is even more pronounced in the detection of newly invented drugs of abuse.

The verification of samples positive for amphetamine/methamphetamine by fluorescence polarization immunoassay

(FPIA) (Abbott AxSym) shows a high degree of diversity [e.g., 4-MMC, 4-methylethcathinone (4-MEC), 4-fluoromethcathinone (4-FMC), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) and methylenedioxypropylamphetamine (MDPV)]. A variety of analytical methods have been developed for the separation and determination of cathinone and its derivatives, and for routine analysis, gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) methods are frequently used (8–10). A wide spectrum of basic substances can be determined semi-quantitatively with Shimadzu Prominence TOX.I.S. HPLC system, developed by Schönberg et al. (11, 12). In our laboratory this instrument is used for toxicological screening of urine samples. Because 4-substituted cathinones (4-MMC, 4-MEC and 4-FMC) are similar to each other in their chemical structure and physical-chemical features, distinguishing them can be difficult (Figure 1). However, the identification of 4-MMC from urine sample is highly reproducible with TOX.I.S., but this method is not selective enough for other cathinone derivatives (Table 1). Therefore, it was necessary to develop a suitable method to identify the commercially available cathinones in urine samples found to be 4-MMC positive by TOX.I.S.

Because 4-MMC has been illegal since January of 2011 and 4-MEC has been illegal since January of 2012 in Hungary, it is obligatory in forensic toxicology to distinguish 4-MMC and 4-MEC from other illegal controlled drugs and from other accessible, but not illegal, 4-substituted derivatives. This new method is based on ultraviolet (UV) detection following a simple cation exchange solid-phase extraction (SPE) of the urine samples, using procaine as the internal standard. This method is capable of determining 4-substituted derivatives in urine.

The method was successfully used to determine accurate concentrations of cathinone derivatives in abusers' urine and to establish their chemical structures.

Experimental

HPLC instrumentation and chromatographic conditions

This method used a Shimadzu Prominence TOX.I.S. HPLC system for toxicological analyses of urine samples. 4-MMC positive samples were further examined using a Jasco HPLC system.

TOX.I.S

The HPLC was performed with a system controller (SCL-10 AVP), a ternary pump system (LC-10 ADVP), a solvent degasser (DGS-10A), a manual injector (Rheodyne 7725i) with a 1,000 µL loop, an oven (CTO-10 ACVP), a gradient unit

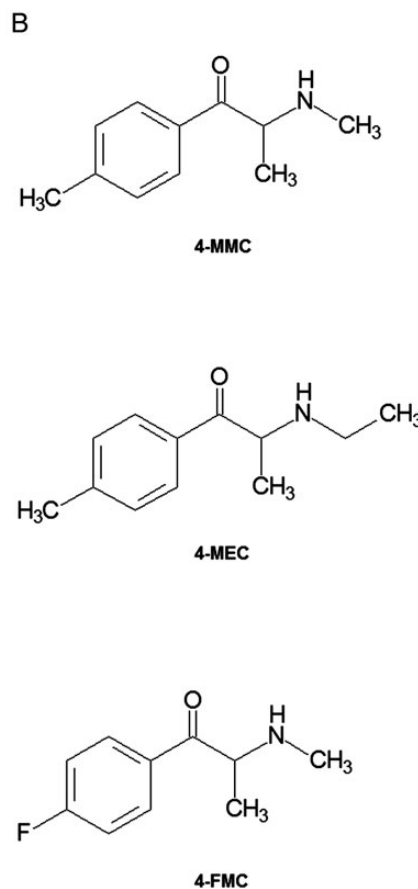
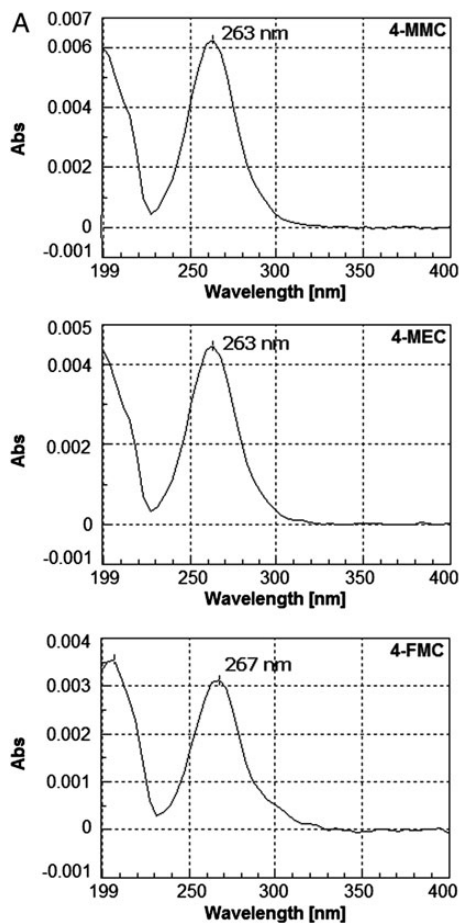


Figure 1. UV-spectra (A) and chemical structures (B) of the examined 4-cathinon derivatives; 4-methylmethcathinone (4-MMC); 4-methylethcathinone (4-MEC); 4-fluoromethcathinone (4-FMC).

Analyte	t_R^* (min)	RSD (%) of t_R	Rt_R^{\dagger}	RSD (%) of Rt_R
4-MMC ($n = 21$)	23.19	1.59	0.63	0.63
4-MEC ($n = 5$)	23.39	2.87	0.64	0.73
4-FMC ($n = 9$)	23.61	2.26	0.65	0.79
IS _T	36.74	1.72	—	—

* t_R : retention time.

$\dagger Rt_R$: relative retention (analyte t_R divided by I.S. t_R).

(FCV-10 ALVP), an option box, two high-pressure valves (FCV-12 AH), two column-switching valves (FCV-14 AH) and a diode-array detection (DAD) system (SPD-M10 AVP) (Shimadzu, Duisburg, Germany). The data were evaluated using Shimadzu LC Solution software (version 1.21). The extraction column (StrataX-CW, 20 × 2.1 mm, 35 μm) and the two analytical columns with guard cartridges (Luna 5u SCX 100A, 150 × 4.6 mm, 5 μm) were obtained from Phenomenex (Aschaffenburg, Germany). The oven was set to 40°C, the detection was performed at 205 and 235 nm and the mobile phase flow rate was 1.0 mL/min. The compounds were separated with the following eluents: the loading buffer was 0.01M phosphate buffer (pH 6.0; Solvent 1), the first wash solvent was

acetonitrile–water (90/10, v/v; Solvent 2) and the second wash solvent was 0.05M phosphate buffer (pH 2.3; Solvent 3). The mobile phase was a mixture of Solvents 2 and 3 (31.5/68.5, v/v).

Jasco HPLC system

HPLC was performed with a system controller (LC-NetII/ADC), a pump (PU-980), a manual injector (Rheodyne 7725i) with a 20 μL loop and a DAD system (MD-2010) (ABL&E-Jasco Magyarország Kft., Budapest, Hungary). Data were evaluated with ChromNAV software (version 1.21). The analytical column with guard cartridge (Kinetex 2.6 μm PFP 100A, 100 × 3.0 mm; KJO-42824 × 3 mm) were obtained from Gen-Lab (Budapest, Hungary). The mobile phase was a mixture of acetonitrile and 0.005M ammonium trifluoroacetate buffer pH 4.93 ± 0.03 (33/67, v/v). Chromatography was performed at room temperature and the mobile phase flow rate was 350 μL/min. The detection was performed at 262 nm.

Reagents and solvents

Deionized water (Rins Aqua) was purchased from Teva Hungary Zrt. (Gödöllő, Hungary). Potassium dihydrogenphosphate (picograde), potassium hydroxide (picograde), hydrochloric acid (25% analytical reagent grade) and acetonitrile

(HPLC grade, Scharlau) were procured from Spektrum-3D Kft. (Debrecen, Hungary). Procaine hydrochloride (internal standard: IS_J) and neostigmine hydrobromide (internal standard: IS_T, Stigmosan injection) were obtained from Pharmagist Kft. (Budapest, Hungary). Trifluoroacetic acid was procured from Merck KGaA (Darmstadt, Germany). The Isolute HCX 100 mg 10 mL⁻¹ SPE column was purchased from Biotage AB (Uppsala, Sweden).

Stock solutions for TOX.I.S

The stock solution of mephedrone was prepared in 0.01M phosphate buffer pH 6.0 (1 mg/mL). The stock solution of neostigmine hydrobromide as IS_T was a Stigmosan injection (0.5 mg/mL). The mephedrone stock solution was diluted with 0.01M phosphate buffer pH 6.0 to a final concentration of 15 µg/mL. The IS_T stock solution was diluted with 0.01M phosphate buffer pH 6.0 to 50 µg/mL. The stock solutions were freshly prepared every two weeks and stored at 4–8°C. IS_T and mephedrone were stable in the solution when stored at 4–8°C for at least 15 days.

Stock solutions for Jasco HPLC system

The stock solutions of 4-MMC, 4-MEC, 4-FMC and IS_J were prepared in methanol (1 mg/mL). The stock solutions were stored at 4–8°C, and these were stable for at least seven days. Standard working solutions were serially diluted from stock solutions with the eluent (33% acetonitrile and 67% 0.005 M ammonium trifluoroacetate buffer pH 4.93, v/v) before analysis.

Urine samples

Urine samples were obtained from healthy volunteers, clinical patients or police cases, delivered in BD Vacutainer tubes and stored at 4–8°C before analysis. In all cases, analyses were performed within 24 h after urine sampling. Data protection was guaranteed at all times.

Sample preparation

For TOX.I.S., 1.0 mL of each urine sample was transferred to a 1.5 mL centrifuge tube and 500 µL IS_T (50 µg/mL) solution was added. The mixture was vortex homogenized and centrifuged for 10 min at 15,000 × g. The injection volume of each sample was 1,000 µL using a manual injector. The extraction was performed at room temperature.

For the Jasco HPLC system, 500 µL of IS solution (800 ng/mL) and 1,000 µL of 1% acetic acid–water was added to 500 µL of a urine sample positive for 4-MMC and vortex-mixed for 20 s. After the urine sample was fortified with IS_J, it was transferred onto the Isolute HCX 100 SPE column, which was previously conditioned with 1 mL acetonitrile and 1 mL water, consecutively. The SPE column was washed with 1 mL 1% acetic acid–water, 1 mL 5% acetic acid–acetonitrile and 1 mL acetonitrile with a flow rate of 1 mL/min. After the SPE column was washed, the sample was eluted twice with 400 µL 0.5 M ammonia–acetonitrile. One drop of concentrated hydrochloric acid was added to the collected eluates and evaporated to dryness under a stream of nitrogen. The dry residues were redissolved in 1,000 µL of eluent before analysis. The extraction was performed at room temperature.

Method validation

A validated method was developed for the determination of 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC in human urine by using the Jasco HPLC system (13). The predetermined validation criteria included specificity, accuracy, linearity, system suitability, precision and limits of detection.

Results and Discussion

Specificity

Specificity was defined as the ability of the method to differentiate and quantify the analytes (4-MMC, 4-MEC, 4-FMC and IS_J) in the presence of endogenous constituents of the urine sample. Figure 2 depicts representative HPLC chromatograms

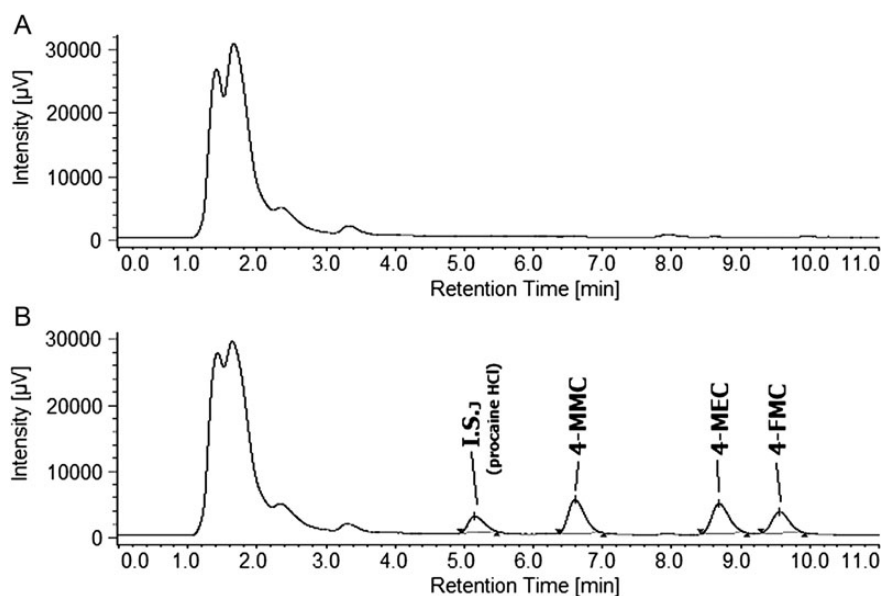


Figure 2. Representative chromatograms: extract of a blank urine sample (A); a blank urine sample spiked with 4-cathinones (300 ng/mL for each) and IS_J (800 ng/mL⁻¹) (B).

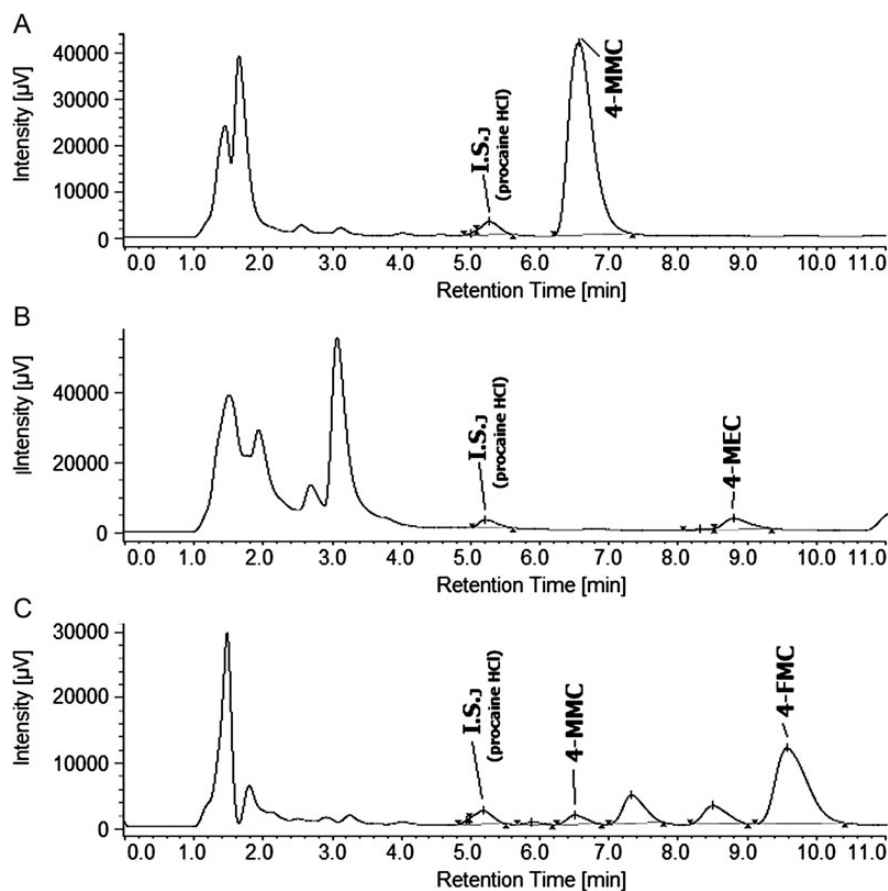


Figure 3. Chromatograms of urine sample extracts of three hospitalized patients. Detected: 4-MMC (A); 4-MEC (B); 4-MMC and 4-FMC (C).

of the extract of blank urine sample and the extract of spiked urine sample. It is clear that there are no endogenous peaks in the regions of the retention times of 4-MMC, 4-MEC, 4-FMC and IS_J. Figure 3 shows chromatograms of urine samples derived from drug abusers.

System suitability

System suitability data were based on the chromatograms of the standard solutions containing 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC (300 ng/mL each) and IS_J (600 ng/mL). Results were obtained from six parallel injections. Evaluation was based on relative standard deviation (RSD, %). System suitability data are summarized in Table II.

Linearity

Linearity was studied by preparing standard solutions of 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC at seven different concentrations (25, 75, 150, 300, 600, 1,200 and 2,400 ng/mL). The calibration range of IS_J standard solution was between 200 and 1,600 ng/mL (200, 800 and 1,600 ng/mL). Data were obtained from three parallel injections of two independent weighings applied at all concentration levels. Calibration curves were generated by plotting the theoretical concentrations against the peak areas of analytes and the linearity was determined by least-squares regression.

Table II

Data for System Suitability in Standard Solution

Analyte	t_R	Rt_R	NTP*	Resolution	$F_{Symmetry}$
IS _J	5.145	–	2,182	3.315	1.271
4-MMC	6.592	1.28	3,683	4.674	1.233
4-MEC	8.672	1.69	5,737	1.957	1.206
4-FMC	9.560	1.86	7,141	–	1.112

*NTP: number of theoretical plates.

Using standard solutions, the method was linear in the range of 25–2,400 ng/mL for 4-MMC [$y = 281.01x - 963.28$, where y is the peak area and x is the concentration (ng/mL), $r^2 = 0.9993$], 4-MEC ($y = 269.11x - 1875$; $r^2 = 0.9958$) and 4-FMC ($y = 195.44 - 546.96$; $r^2 = 0.9997$) and was linear between 200 and 1,600 ng/mL for IS_J ($y = 82.36x - 439.94$; $r^2 = 0.9910$).

Precision

Precision was studied by investigating the repeatability and intermediate precision. Repeatability was determined by measuring intra-day data of three parallel injections of three independent weighings of 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC (300 ng/mL each). Intermediate precision was based on inter-day data (by injection of the samples over three consecutive days) of three

parallel injections of three weighings of 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC (300 ng/mL each). Evaluation was performed by calculating the RSD (%) (Table III).

Accuracy

Accuracy was calculated by spiking human urine samples with accurate amounts of 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC (100, 300 and 1,200 ng/mL) and IS_J at 800 ng/mL urine concentration. After SPE of the samples, the percentages of recoveries were calculated. The mean analytical recovery was 75.90% for 4-MMC, 82.15% 4-MEC, 71.70% for 4-FMC and 77.51% for IS_J. The evaluation was based on RSD (%). (Table IV).

The spiked urine standards were provided by healthy volunteers. These were prepared by spiking blank urine samples with a known amount of standard solution. The added volume of the standard solution (which was diluted with 1% acetic acid in water to the accurate concentration) was less than the 25% of the volume of the urine sample. The final concentrations of 4-substituted cathinones were set at 100, 300 and 1,200 ng/mL. The final concentration of IS_J was set at 800 ng/mL in all urine samples.

Matrix effect

A standard solution (Solution S) was prepared by dissolving 4-MMC, 4-MEC, 4-FMC (300 ng/mL each) and IS_J (600 ng/mL) in the mobile phase. The matrix effect was studied after solid

phase extraction of blank urine samples. After evaporation, the dry residue was redissolved in Solution S and the obtained solution was called Solution M. The areas of peaks obtained from Solution S were compared to the peak areas of Solution M. Three parallel measurements were conducted. Matrix suppression or enhancement was calculated as follows: matrix effect (S%) = 100 × (mean calculated concentration of Solution S / mean calculated concentration of Solution M). The matrix effect for each compound was not significant and the RSD was lower than 1.3%. The results are summarized in Table V.

Determination of LOD and LOQ

The limit of detection (LOD) was determined experimentally. LOD was assumed as the concentration producing a detector signal that could be clearly distinguished from the baseline noise (three times the baseline noise). The lower limit of quantification (LLOQ) was assumed as the concentration that produced a detector signal 10 times greater than the baseline noise. The upper limit of quantification (ULOQ) was the highest concentration level of the calibration range.

The LOD and LLOQ values of 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC in human urine were found to be 40 and 100 ng/mL, respectively. The ULOQ was 2,400 ng/mL for each component.

Stability of urine sample

Urine samples were stored at 4–8°C, and the stability of their components was monitored within a 15-day period (day 0, day 3, day 7 and day 15).

Mean recoveries for 4-MMC, 4-MEC and 4-FMC in urine samples were between 93 and 107% for each substance, with RSD < 8% ($n = 4$).

Application

The determination of recreational drugs is essential in emergency medical care, but it is also important in screening the employees of drug-free work places and in proving drug influences in drivers or in cases of violent crimes.

The validated, easy-to-perform HPLC–DAD method detailed previously was developed in a forensic toxicology laboratory and is capable of confirming the abuse of 4-substituted

Table III

Intermediate Precision and Repeatability Data for 300 ng/mL Solutions

	Inter-day precision				Intra-day precision		
	concentration (ng/mL)				concentration (ng/mL)		
	4-MMC	4-MEC	4-FMC		4-MMC	4-MEC	4-FMC
Day 1	285.95	288.81	282.06	Weighing 1	301.09	283.94	276.93
	286.51	293.81	281.41		304.11	289.99	270.10
Day 2	288.76	295.12	286.62	Weighing 2	301.34	288.22	274.60
	291.80	291.85	285.06		285.95	288.81	282.06
Day 3	293.28	294.07	283.11	Weighing 3	286.51	293.81	281.41
	292.60	294.64	289.16		288.76	295.12	286.62
Mean	295.67	313.61	281.98		288.73	293.79	284.17
	290.90	311.54	286.09		299.12	297.33	288.49
RSD (%)	296.25	323.07	288.67		290.67	299.22	290.52
	291.30	300.73	284.91		294.03	292.25	281.65
	0.40	1.26	0.32		0.77	0.52	0.75

Table IV

Data for the Accuracy of the Determination in Urine

IS _J	4-MMC		4-MEC		4-FMC		
	concentration (ng/mL)	Recovery (%)	concentration (ng/mL)	Recovery (%)	concentration (ng/mL)	Recovery (%)	
800	79.51	1,200	69.90	1,200	78.37	1,200	68.41
800	82.54	1,200	67.24	1,200	77.60	1,200	67.47
800	78.85	1,200	70.69	1,200	79.02	1,200	72.22
800	69.34	300	75.23	300	77.17	300	66.04
800	77.67	300	78.18	300	88.62	300	71.90
800	74.11	300	77.09	300	84.79	300	75.29
800	78.31	100	81.30	100	87.13	100	75.44
800	76.21	100	79.09	100	85.59	100	72.70
800	81.21	100	84.41	100	81.09	100	75.85
Mean	77.51		75.90		82.15		71.70
RSD (%)	1.60		2.35		1.69		1.60

Table V
Matrix Effect

Sample*		IS _J	4-MMC	4-MEC	4-FMC
S	concentration (ng/mL)	613.10	296.25	323.07	288.67
M1	concentration (ng/mL)	600.25	297.84	327.45	296.16
	S%	97.90	100.54	101.36	102.60
M2	concentration (ng/mL)	612.31	290.90	311.54	286.09
	S%	99.87	98.20	96.43	99.11
M3	concentration (ng/mL)	621.69	295.67	313.61	281.98
	S%	101.40	99.80	97.07	97.68
Mean	concentration (ng/mL)	611.42	294.81	317.53	288.08
Mean	S%	99.73	99.51	98.29	99.80
RSD (%)		0.83	0.57	1.28	1.19

*S: standard solution containing 4-cathinones and IS; M: dry matrix residue of blank urine from three parallel extraction redissolved in Solution S.

cathinones (4-MMC, 4-MEC and 4-FMC). With this technique, false-positive results can be avoided.

From January of 2010 to March of 2011, the presence of designer drugs was confirmed in 183 police-requested cases. During the same period of time, 27 clinical cases of 4-MMC intoxication were studied. The ages of the patients ranged from 15 to 29 years. Only three of them were women. The most usual symptoms of 4-MMC poisoning were unconsciousness (eight cases), somnolence (eight cases), agitated condition (eight cases) and respiration difficulty (three cases). In some cases, somnolence and agitated condition followed each other. It is obvious that these drugs are used by young people, and in many cases, life-threatening conditions developed. Therefore, early diagnosis is crucial in these cases.

Conclusion

At present, 4-MMC and 4-MEC seem to be the most popular synthesized cathinone derivatives in the authors' region. The identification of 4-MMC from urine samples is highly reproducible with TOX.I.S. Although TOX.I.S. is a fully automated system that is highly efficient in the analysis of designer drugs in acute emergency cases, its sensitivity and selectivity are insufficient for confirmation analysis in forensic use (Table I).

A sensitive and rapid HPLC–DAD method was performed following SPE for the selective determination of 4-substituted cathinones. The recovery of solid-phase extraction was highly efficient: the recovery rate was between 71 and 82% (Table IV). The method was linear within the concentration range of 25–2,400 ng/mL. The LOD for any compound (4-MMC, 4-MEC and 4-FMC) extracted from human urine by the optimized SPE method was 40 ng/mL and the LOQ was 100 ng/mL in urine.

This method is capable of determining and distinguishing the different cathinone derivatives with a high degree of

certainty. Because 4-MMC and 4-MEC are illegal recreational drugs in Hungary, it is important to differentiate them from the legal drugs; for example, 4-FMC, which is a "legal high."

Acknowledgments

Financial assistance was provided by grants from PTE AOK KA 34039/11 to K. S. The purchase of TOX.I.S. was supported by Children Cancer Foundation (Hungary, 18161007-1-42).

References

- McElrath, K., O'Neill, C.; Experiences with mephedrone pre- and post-legislative controls: perceptions of safety and sources of supply. *International Journal of Drug Policy*, (2011); 22(2): 120–127.
- Vardakou, I., Pistos, C., Spiliopoulou, Ch.; Drugs for youth via Internet and the example of mephedrone; *Toxicology Letters*, (2011); 201(3): 191–195.
- Sammler, E.M., Foley, P.L., Lauder, G.D., Wilson, S.J., Goudie, A.R., O'Riordan, J.I.; A harmless high? *Lancet*, (2010); 376(9742): 742.
- Lusthof, K.J., Oosting, R., Maes, A., Verschraagen, M., Dijkhuizen, A., Sprong, A.G.; A case of extreme agitation and death after the use of mephedrone in The Netherlands; *Forensic Science International*, (2011); 206(1-3): e93–e95.
- Torrance, H., Cooper, G.; The detection of mephedrone (4-methylmethcathinone) in fatalities in Scotland; *Forensic Science International*, (2010); 202(1-3): e62–e63.
- Maskell, P.D., De Paoli, G., Seneviratne, C., Pounder, D.J.; Mephedrone (4-methylmethcathinone)-related deaths; *Journal of Analytical Toxicology*, (2011); 35(3): 188–191.
- Brandt, S.D., Sumnall, H.R., Measham, F., Cole, J.; The confusing case of NRG-1; *British Medical Journal*, (2010); 341: c3564.
- Dickson, A.J., Vorce, S.P., Levine, B., Past, M.R.; Multiple-drug toxicity caused by the coadministration of 4-methylmethcathinone (mephedrone) and heroin; *Journal of Analytical Toxicology*, (2010); 34(3): 162–168.
- Wood, D.M., Davies, S., Puchnarewicz, M., Button, J., Archer, R., Ovaska, H., *et al.*; Recreational use of mephedrone (4-methylmethcathinone, 4-MMC) with associated sympathomimetic toxicity; *Journal of Medical Toxicology*, (2010); 6(3): 327–330.
- Brandt, S.D., Freeman, S., Sumnall, H.R., Measham, F., Cole, J.; Analysis of NRG 'legal highs' in the UK: Identification and formation of novel cathinones; *Journal of Medical Toxicology*, (2010); 6: 327–330.
- Schönberg, L., Grobosch, T., Lampe, D., Kloft, C.; New screening method for basic compounds in urine by on-line extraction high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection; *Journal of Chromatography A*, (2006); 1134(1-2): 177–185.
- Schönberg, L., Grobosch, T., Lampe, D., Kloft, C.; Toxicological screening in urine: Comparison of two automated HPLC screening systems, toxicological identification system (TOX.I.S.) versus REMEDI-HS; *Journal of Analytical Toxicology*, (2007); 31(6): 321–327.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1). ICH, IFPMA, Geneva, Switzerland, (November 2005) <http://www.ich.org> (19 March 2012).



The In Vitro Stability of Four New Psychoactive Substances in Urine Samples Stored At Different Temperatures

David Hesszenberger^{1*}, Aniko Lajtai¹, Matyas Mayer², Agnes Lakatos¹, Attila Miseta¹

¹Department of Laboratory Medicine, University of Pécs, Medical School, Pécs, Hungary

²Department of Forensic Medicine, University of Pécs, Medical School, Pécs, Hungary

*Corresponding author: David Hesszenberger, Department of Laboratory Medicine, University of Pécs Ifjúság útja 13, H-7624 Pécs, Hungary, Tel: +36 72 535 836; Fax: +36 72 536 121; E-mail: david.hesszenberger@aok.pte.hu

Received date: July 10, 2020; Accepted date: July 24, 2020; Published date: July 31, 2020

Abstract

Objective: In the last ten years New Psychoactive Substances (NPS) have become more frequent than the classic illicit drugs. The stability of these compounds during the different storage temperatures is less known, so the aim of our study was to investigate the extent of in vitro degradation in urine samples stored at room temperature (25 °C), in the refrigerator (4 °C) and in the freezer (-20 °C) for 21 days.

Methods: The analysis was performed on HPLC-DAD system. The confirmatory examination of synthetic cannabinoid parent compounds was carried out on SFC-MS/MS.

Results: N-Ethyl-Pentylone was stable at all three storage temperature. N-ethyl-hexedrone shows a significant ($p = 0.03$) decrease at room temperature, but was stable in the refrigerator and in the freezer. 5F-MDMB-PINACA and AB-FUBINACA metabolites seemed stable at lower temperatures, but at 25 °C the degradation was significant ($p = 0.04$).

Conclusion: The temperature greatly influences the stability, so based on our measures we conclude that the storage exclusively at -20 °C is satisfactory for the majority of NPS.

Keywords: New psychoactive substances; N-Ethyl-Pentylone; N-Ethyl-Hexedrone; Synthetic Cannabinoids; Stability; HPLC-DAD, SFC-MS/MS

Introduction

The consumption of NPS also known as designer drugs has shown a rapid and continuous increase in the last decade, which is an ongoing challenge for drug testing laboratories. Moreover, the legal status of these synthetic drugs is not cleared. The compounds are mainly produced in illegal Chinese and Indonesian laboratories by clandestine chemists who modify the chemical structure of already banned drugs to avoid legislation controls besides the preservation of the original effects. The trade of NPS differs from classic drugs as well. The distribution has been transferred from street drug dealers to headshops

and websites, which offer NPS as bath salts, plant food, insect repellents, air fresheners or research chemicals with the warning label “not for human consumption” or “for research purposes only” [1-3].

NPS can be divided into groups according to their chemical structure. A high amount of them belongs to the synthetic cannabinoids and synthetic cathinones, while the others pertain to phenethylamines, tryptamines or piperazines. The most popular of them are the synthetic cannabinoids (e.g. 5F-MDMB-PINACA, AB-FUBINACA) which have similar effects as cannabis through the activation of CB1 receptors. Originally these compounds were developed for research purposes but later they conquered the drug market on various brand names like Spice in Europe or K2 in the United States. Typical symptoms of use are altered mood states, subjective changes in sensation, cognitive impairments, disorganized thought, paranoid and anxious reaction, depression, dissociation and hallucinations. The structure of synthetic cathinones (e.g. N-ethyl-pentylone, N-ethyl-hexedrone) are based on the structure of the alkaloid occurring in the khat plant (*Catha edulis*), which is consumed mainly on the Arabian Peninsula by chewing the leaves. These are β -keto analogues of amphetamines. Side effects of the use are mild agitation, aggression, euphoria, psychosis, hypertension, tachycardia and in some cases they can even be lethal [2,4-7].

Most of the NPS are not tested on humans before they appear on the market, so there are several risk factors related to the use. Thanks to the poor quality control in the production the chemical structure, the dosage and the possible contaminants are unknown, which can easily lead to a fatal poisoning or overdose. Furthermore, the metabolism and the interactions with other xenobiotics, including medicines are also unidentified. Traditional screening methods, like immunoassays are not optimal to identify NPS, so several analytical techniques must be applied, e.g. gas chromatography (GC), nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, high performance liquid chromatography (HPLC) and mass spectrometry (MS). To a reliable identification and quantification, the major challenge is the lack of analytical information and certified reference material [6-9]. While the stability of classic illicit drugs is already investigated and well known, the effect of storage temperature on the degradation of NPS in biological matrices, like blood or urine is mainly unidentified due to the large number of compounds. In addition, the samples often arrive after days or even weeks of the collection to the forensic toxicological laboratory and the transport conditions are also unknown, which factors can seriously complicate the examination of evidence specimens [10-13].

The aim of our study was to investigate to what extent the above mentioned representatives of NPS can be detected from forensic toxicological samples stored for 21 days at room temperature (25 °C), in the refrigerator (4 °C), and in the freezer (-20 °C).

Materials and Methods

Chemicals and reagents for HPLC analysis

Water and acetonitrile were sourced from Fisher Chemical (Pittsburgh, PA, USA). Potassium dihydrogen phosphate and o-phosphoric acid ($w = 85\%$) were obtained from Molar Chemicals (Budapest, Hungary). Potassium hydroxide was purchased from Lach-Ner (Neratovice, Czech Republic). Steritop Threaded Bottle Top Filter (500 ml process volume, 0.22 μm pore size) was from Merck Milipore (Burlington, Canada). Internal Standard for TOX.I.S (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ N-ethyl-

oxazepam) was purchased from Recipe Chemicals (Munich, Germany). The previously analyzed and certified reference materials to the NPS identification and quantification were obtained from the Hungarian Institute for Forensic Sciences (Budapest, Hungary).

For the preparation of potassium phosphate buffer (pH = 2.3) 33.3 g potassium dihydrogen phosphate was transferred into a 5000 ml measuring flask filled with water. The mixture was stirred for approximately 10 minutes with a magnetic stirrer without heat. 22.4 g o-phosphoric acid was added and stirred for another 5 minutes. The pH was adjusted to 2.25–2.35 with o-phosphoric acid, and then the measuring flask was filled to the mark. For the other potassium phosphate buffer (pH = 9.0) 13.61 g potassium dihydrogen phosphate was dissolved in 900 ml water and mixed approximately 10 minutes with a magnetic stirrer without heat. Before the filling of the measuring flask to 1000 ml, the pH was adjusted to 9.0 with potassium hydroxide solution. Both buffers were filtered and stored in amber-glass bottles in the refrigerator, the durability was at least 6 months.

HPLC analysis

For the sample preparation 100 µl urine was transferred into a 1.5 ml SafeSeal tube (Sarstedt, Nümbrecht, Germany), thereafter 500 µl water, 250 µl potassium phosphate buffer (pH = 9.0) plus 250 µl Internal Standard (2 µg/ml N-ethyl-oxazepam) was added, vortexed and centrifuged for 4 minutes at 8360 RPM. The injection volume was 1.0 ml. The analysis was performed on Shimadzu Prominence TOX.I.S II. HPLC system coupled with diode array detection (Shimadzu, Duisburg, Germany). The HPLC was performed with a system controller (CBM-20A), a ternary pump system (LC-20AB), a solvent degasser (DGU-20A), a manual injector (Rheodyne 7725i) with a 1000 µl loop, an oven (CTO-20AC), a gradient unit (FCV-20AH), four flow-line selection valves (two FCV-12AH; two FCV-14AH), and a diode array detection (DAD) system (SPD-M20A) The data were evaluated using Shimadzu LC Solution software (version 1.21). The extraction column (Strata-X On-Line Extraction Cartridge) and the analytical column with guard cartridges (Gemini-NX 3u C18 110A, 5 µm) were obtained from Phenomenex (Aschaffenburg, Germany). The oven was set to 40 °C, the detection was performed at 205 and 235 nm, and the mobile phase flow rate was 1.0 ml/min. The compounds were separated with the following eluents: the loading buffer was 0.01 M potassium phosphate buffer (pH = 9.0; solvent 1), the first wash solvent was acetonitrile-water (90/10, v/v; solvent 2), and the second wash solvent was 0.05 M potassium phosphate buffer (pH = 2.3; solvent 3). The mobile phase was a mixture of solvent 2 and 3 (15/85, v/v) [14].

Confirmatory Examination

The HPLC system which was used to investigate the stability of NPS is not able to identify the parent compound of synthetic cannabinoids, therefore in most of the processed cases only the metabolite was detectable on the chromatogram. In such instances the identification was based on the similar spectrum of the parent compound and metabolite. Because there are no certified reference materials available for metabolites, in such cases the extent of the degradation was concluded from the changes of under the curve areas.

To identify the parent substances confirmatory examination were carried out in the Department of Forensic Medicine. After salting-out assisted liquid-liquid microextraction, measurements were performed by ACQUITY UPC2 supercritical fluid chromatography system

(Waters, MA, USA) coupled with a Xevo TQ-S Triple Quadrupole Mass Spectrometer (Waters, MA, USA). Data were recorded by MassLynx software (version 4.1) and evaluated by TargetLynx XS software. Separation of the compounds was performed on a 3.0 mm × 100 mm, 1.7 µm particle size, AQUITY UPC2BEH analytical column (Waters, MA, USA). The mobile phase consisted of the mixture of carbon dioxide (A), 30 mM ammonium hydroxide and 15 mM acetic acid in methanol (B) with a flow rate of 1.5 ml/min. The following gradient profile was used: 99.9% A at 0.0 min and 68% A at 8 min. Pre-equilibration period lasting 2.5 minutes was applied before each injection. Constant 200 bar back pressure was used to maintain the supercritical state. The temperature was set at 45 °C and the volume of injection was 1.5 µl. To sustain a suitable electrospray, an additional solution consisting of 5 mM acetic acid in methanol was applied with a flow rate of 0.15 ml/min. This makeup solvent was delivered by a Waters 515 HPLC pump.

The MS measurement was performed in positive ion mode. The ESI source was operated with a spray voltage of 3.00 kV, cone voltage was 30 V. The source was set at 150 °C. Both desolvation and cone gases were nitrogen delivered at 300 and 150 l/min respectively. Desolvation gas was temperatured at 300 °C. Collision gas was argon with flow rate of 0.13 ml/min. MS/MS experiments were performed in MRM (multiple reaction monitoring) mode, monitoring three fragments with optimal collision energies [15].

Statistics

Statistical analysis was performed with MS Office Excel software (version 2016). Student's t-test was used to compare the mean values of two groups (room temperature samples to refrigerated/frozen samples) in each NPS type. Differences were considered as significant when the p value was < 0.05.

Results

The stability of synthetic cathinones is shown in Table 1 and 2, while the changes of the synthetic cannabinoid metabolites are in Table 3, where only under the curve areas are listed because of the previously mentioned absence of certified reference materials. The first analysis data are from the first measures, after the samples arrived at the laboratory. Further data are from the measures performed on the 21st day of the storage. The small increases of all examined NPS could have been put down to the analytical variation.

N-ethyl-pentylone was stable at all storage temperatures. The comparison of the first analysis data to the room temperature (p = 0.38), to the refrigerated (p = 0.44) and to the frozen (p = 0.41) samples resulted in no significant degradation in spite of the fact that in some samples the decrease exceeded the 50%. The mean values of the compounds are on (Figure 1).

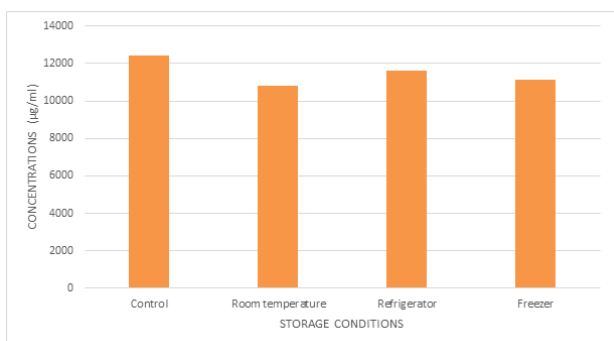


Figure 1: The mean values of N-ethyl-pentylone (n=6) measured on different storage temperatures.

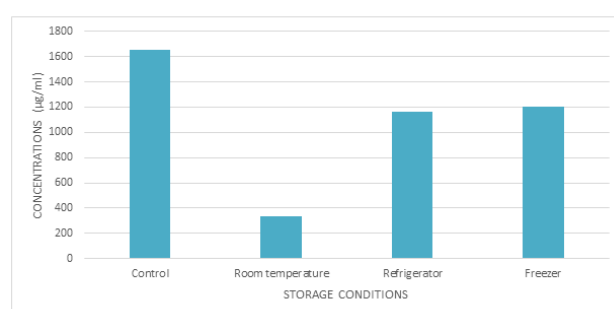


Figure 2: The mean values of N-ethyl-hexedrone (n=12) measured on different storage temperatures.

First analysis data	Room temperature	Refrigerator	Freezer
20800	17200	18900	15200
100	-17	-9	-27
19300	16800	17200	17800
100	-13	-11	-8
16900	15200	17700	17700
100	-10	5	5
17100	15500	15600	15800
100	-9	-9	-8
30	10	10	20
100	-67	-67	-33
400	0	400	395
100	-100	0	-1

Table 1: Changes of the concentrations of N-ethyl-pentylone in µg/ml (white rows) and in percent (bold Values).

In the degradation of N-ethyl-hexedrone the statistical analysis eventuated no significance both in the samples stored in the refrigerator ($p = 0.27$) and in the freezer ($p = 0.28$), but in the room temperature a significant ($p = 0.03$) decrease was provable. The mean values of the compounds are on (Figure 2).

First analysis data	Room temperature	Refrigerator	Freezer
400	17	190	240
100	-96	-52	-40
4300	2180	4090	3800
100	-49	-5	-12
1470	790	1520	1580
100	-46	3	7
110	50	105	112
100	-55	-5	2
800	240	230	700
100	-70	-71	-12
7600	0	4500	4300
100	-100	-41	-43
900	0	10	70
100	-100	-99	-92
90	0	30	40
100	-100	-77	-66
1180	770	1090	1060
100	-35	-8	-10
700	0	600	600
100	-100	-14	-14
400	0	170	400
100	-100	-57	0
1860	0	1430	1520

100	-100	-33	-18
------------	-------------	------------	------------

Table 2: Changes of the concentrations of N-ethyl-hexedrone in µg/ml (white rows) and in percent (Bold Values).

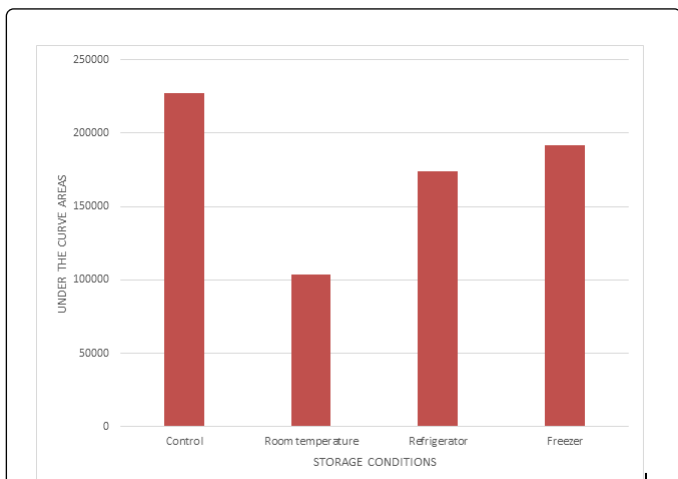


Figure 3: The mean under the curve areas of synthetic cannabinoid metabolites (n=16) measured on different storage temperatures.

We detected two types of synthetic cannabinoid metabolite: 5F-MDMB-PINACA in 14 and AB-FUBINACA in 2 samples. These NPS seem stable in the refrigerator ($p = 0.23$) and in the freezer ($p = 0.31$) as well, but in the urines stored in 25 °C the degradation was significant ($p = 0.04$). The mean values of the compounds are on (Figure 3).

First analysis data	Room temperature	Refrigerator	Freezer	Detected metabolites	NPS
684839	683696	683756	683960	5F-MDMB-PINACA	
100	0	0	0		
166889	134129	189076	180839	5F-MDMB-PINACA	
100	-20	13	8		
123524	62204	125059	116547	5F-MDMB-PINACA	
100	-50	1	-6		
106415	90922	109921	105978	5F-MDMB-PINACA	
100	-15	3	0		
541270	14359	369716	277276	5F-MDMB-PINACA	
100	-97	-32	-49		
614640	270898	316661	425626	5F-MDMB-PINACA	

100	-56	-48	-31	
158905	0	0	132294	5F-MDMB-PINACA
100	-100	-100	-17	
77420	24718	40989	51514	5F-MDMB-PINACA
100	-68	-47	-33	
142912	68385	76368	89941	5F-MDMB-PINACA
100	-52	-47	-37	
34679	0	32852	34001	5F-MDMB-PINACA
100	-100	-5	-2	
185768	4123	190164	184256	5F-MDMB-PINACA
100	-98	2	-1	
238856	51207	160820	257611	5F-MDMB-PINACA
100	-79	-33	8	
410242	251289	339392	376055	5F-MDMB-PINACA
100	-39	-17	-8	
149906	0	144529	149102	5F-MDMB-PINACA
100	-100	-4	-1	
905	33	268	316	AB-FUBINACA
100	-96	-70	-65	
712	0	0	0	AB-FUBINACA
100	-100	-100	-100	

Table 3: Changes in under the curve areas (white rows) and in percent (grey rows) of synthetic cannabinoid metabolites.

Discussion

The spreading of NPS in the last few years brings up serious problems like the impact of these chemicals on human health, the legislation controls or the detection from biological matrices. The degradation is also less observed during long term storage, but as we expected the temperature greatly influences the stability. Based on our measures we conclude that the storage exclusively at -20 °C is satisfactory for the majority of NPS.

The rapid changes on the drug market make it necessary to extend the study to substances appearing in the near future. It will be also justifiable to work out protocols for sample transport and storage to reduce the degradation as much as possible.

References

1. Concheiro M, Castaneto M, Kronstrand R, Huestis MA (2015) Simultaneous Determination of 40 novel Psychoactive Stimulants

- in Urine by Liquid Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry and Library Matching. *Journal of Chromatography A*. 1397: 32-42.
- Zawilska JB, Andrzejczak D (2015) Next Generation of Novel Psychoactive Substances on the Horizon – A Complex Problem to face. *Drug and Alcohol Depend*. 157: 1-17.
 - Hagan AO, Smith C (2017) A New Beginning: An Overview of New Psychoactive Substances. *Forensic Res Criminol Int J*. 5: 00159.
 - Reuter P, Pardo B (2017) New Psychoactive Substances: Are There Any Good Options for Regulating New Psychoactive Substances? *Int J Drug Policy*. 40: 117-122.
 - Paul M, Ippisch J, Herrmann C, Guber S, Schultis W (2014) Analysis of New Designer Drugs and Common Drugs of Abuse in Urine by Combined Targeted and Untargeted LC-HR-QTOFMS Approach. *Anal Bioanal Chem*. 406: 4425-4441.
 - Patil V, Tewari A, Rao R (2016) New Psychoactive Substances: Issues and Challenges. *J Mental Health Hum Behav* 21: 98-104.
 - Soria ML (2017) New Psychoactive Substances: Risks and Challenges. *Toxicol Forensic Med Open J* 2: 39-40.
 - Al-Saffar Y, Stephanson NN, Beck O (2013) Multicomponent LC-MS/MS Screening Method for Detection of New Psychoactive Drugs, Legal Highs, in Urine – Experience From the Swedish Population. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 930: 112-120.
 - Chen X (2015) Simultaneous Determination of Four Designer Drugs and Their Major Metabolites by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 992: 1-7.
 - Johnson RD, Botch-Jones SR (2013) The Stability of Four Designer Drugs: MDPV, Mephedrone, BZP and TFMPP in Three Biological Matrices Under Various Storage Conditions. *Journal of Analytical Toxicology*. 37: 51-55.
 - Glicksberg L, Kerrigan S (2018) Stability of Synthetic Cathinones in Urine. *Journal of Analytical Toxicology*. 42: 77-87.
 - Adamowicz P, Malczyk A (2019) Stability of Synthetic Cathinones in Blood and Urine. *Forensic Sci Int*. 295: 36-45.
 - Fort C, Jourdan T, Kemp J, Curtis B (2017) Stability of Synthetic Cannabinoids in Biological Specimens: Analysis Through Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol*. 41: 360-366.
 - Lajtai A, Mayer M, Lakatos A, Porpaczy Z, Miseta A (2016) Embutramide, a Component of Tanax (T-61) as a New Drug of Abuse? *J Forensic Sci*. 61: 573-575.
 - Rusznak K, Cseko K, Varga Zs, Csabai D, Bona A, et al.(2018) Long-Term Stress and Concomitant Marijuana Smoke Exposure Affect Physiology, Behavior and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Front. Pharmacol*. 9: 1-20.