

Univerzita Karlova
3. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Neurovědy



Disertační práce

**Nové syntetické drogy – neurobiologie účinku, toxicita a návykový
potenciál**

New synthetic drugs – neurobiology, toxicity and addictive potential

Školitel: MUDr. Tomáš Páleníček, PhD.

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 17.9.2020

Nikola Leca

Podpis

Identifikační záznam:

LECA, Nikola. *Nové syntetické drogy – neurobiologie účinku, toxicita a návykový potenciál.*
[*New synthetic drugs – neurobiology, toxicity and addictive potential*]. Praha, 2020. 80, 7.

Disertační práce. Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, Národní ústav duševního zdraví.

Vedoucí závěrečné práce: MUDr. Tomáš Páleníček, PhD.

Klíčová slova: *Nové syntetické drogy, nové psychoaktivní substance, syntetické katinony, toxicita, neurobiologie, animální modely*

Key words: *New synthetic drugs, Novel psychoactive substances, synthetic cathinones, toxicity, neurobiology, animal models*

ABSTRAKT

Úvod: Nové syntetické drogy (NSD) se s přelomem tisíciletí staly populární složkou drogové scény nejen v České republice, ale i po celém světě. Hlavním důvodem jejich oblíbenosti a rozšíření je jejich legálnost a záliba uživatelů vyhledávat nové zážitky. Dochází tak k neustále novému produkování substancí s nejrůznějšími chemickými modifikacemi struktury, avšak odborné informace o akutních a chronických účincích, farmakologii a toxikologii převážně chybí nebo jsou nedostačující.

Cíl: Hlavním cílem disertační práce bylo studium a evaluace NSD z řad katinonů. Dílčí cíle byly následující: 1) zhodnotit míru intenzity stimulačních účinků 2) zhodnotit míru narušení senzomotorického zpracování 3) zhodnotit akutní toxicitu z hlediska rizika hypertermie 4) zhodnotit návykový potenciál.

Metodika: Testované NSD v rámci této práce byly mefedron (2.5, 5, 20 mg/kg) metylon 5, 10, 20, 40 mg/kg) a nafyron (5, 10, 20 mg/kg). Všechny NSD byly aplikovány subkutánně v objemu 2 ml/kg. Dospělí samci laboratorního potkana kmene Wistar byli behaviorálně testováni v testu otevřeného pole (n = 10/skupina), testu prepulzní inhibice (n = 10/skupina) a testu podmíněné preference místa (n = 13/skupina). Pro farmakokinetické experimenty byla potkanům odebrána krev a orgány (mozek, plíce, játra) v předem stanovených intervalech, n = 8/skupina. Pro zhodnocení vlivu NSD na tělesnou teplotu byla potkanům měřena rektální teplota, n = 10/skupina. Cílová struktura pro mikrodialyzační experiment byl *nucleus accumbens* (NAcc) a hodnotily jsme hladiny dopaminu po podání NSD, n = 10/skupina.

Výsledky: Zkoumané syntetické katinony vykazovaly rychlou absorpci, průchod hematoencefalickou bariérou a akumulaci v plicní tkáni. Koncentrace syntetických katinonů byly v mozku u většiny násobně vyšší než v séru – mozek/sérum ratio bylo pro mefedron 1.19, pro

metylon 4.54 a pro nafyron 6.5. Stimulační efekt byl patrný u všech podaných látek s nejméně výrazným efektem 5 min (mefedron) a 15 min po aplikaci (metylon, nafyron). Prepulzní inhibice nebyla narušena žádnou dávkou mefedronu ani metylonu, u nafyronu (20 mg/kg) jsme překvapivě pozorovali její zlepšení. Všechny studované substance signifikantně zvýšily tělesnou teplotu potkanů neohledě na podmínky ustájení (samostatně vs. po pěti). V testu CPP vedl nafyron k signifikantně zvýšenému preferenčnímu skóre pro arénu spojenou s jeho podáním. Letální dávka metylonu byla 40 mg/kg.

Závěr: Syntetické katinony mefedron, metylyon a nafyron působily stimulačně, jako nejpotentnější stimulant se ukázal být mefedron. Všechny testované substance vyvolaly hypertermii, avšak v porovnání s jinými serotonergními NSD jejich vliv na tělesnou teplotu nebyl tak robustní. Důvod hypertermie tedy sledujeme ve zvýšené behaviorální aktivitě spíše než jako projev serotoninové toxicity. Na základě našich zjištění hodnotíme mefedron, metylyon a nafyron jako substance působící převážně přes dopaminergní neurotransmisi s potenciálem vyvolávat závislost.

ABSTRACT

Introduction: Since the beginning of this century, new synthetic drugs (NSD) have become a popular component of Czech Republic and worldwide drug scene. The main reason for their popularity and prevalence is their legality and the interest of users to seek new experiences. This leads to a constant production of substances with various chemical structure's modifications, but information about acute and chronic effects, pharmacology and toxicology are mostly missing or they are not sufficient.

Aims: The main aim of this doctoral thesis was to evaluate NSD from the ranks of cathinones. The subobjectives were as follows: 1) evaluation of stimulation potential 2) evaluation of potency to disrupt sensorimotor gating 3) evaluation of acute toxicity in terms of the risk of hyperthermia 4) evaluation of addictive potential.

Methods: The NSDs tested in this thesis were mephedrone (2.5, 5, 20 mg/kg), methylene 5, 10, 20, 40 mg/kg) and naphyrone (5, 10, 20 mg/kg). All NSDs were administered subcutaneously in a volume of 2 ml/kg. Adult male Wistar rats were behaviourally tested in the open field test (n = 10/group), the prepulse inhibition test (n = 10/group) and the conditioned place preference test (n = 13/group). For pharmacokinetic experiments, serum and organs (brain, lungs, liver) were collected at predetermined intervals, n = 8/group. To evaluate the effect of NSD on body temperature, the rectal temperature was measured, n = 10/group. The target structure for the microdialysis experiment was *nucleus accumbens* (NAcc) and dopamine levels were evaluated after NSD administration, n = 10/group.

Results: The investigated synthetic cathinones showed rapid absorption, fast crossing of blood-brain barrier and accumulation in lung tissue. Levels of synthetic cathinones in the brain were much higher than those in serum - the brain/serum ratio was 1.19 for mephedrone, 4.54 for

methylone and 6.5 for naphyrone. The stimulation effect was present at all administered substances with the most pronounced effect 5 min (mephedrone) and 15 min (methylone, naphyrone) after administration. Prepulse inhibition was not disrupted by any mephedrone or methylone dose, surprisingly we observed an improvement after naphyrone (20 mg/kg). All studied substances significantly increased the body temperature of rats regardless of housing conditions (alone vs. five). In the conditioned place preference test, naphyrone led to significantly increased preferential score for the arena associated with its administration. The lethal dose of methylone was 40 mg/kg.

Conclusion: Synthetic cathinones mephedrone, methylone and naphyrone had a stimulation effect, with mephedrone as the most potent stimulant. All substances induced hyperthermia, but compared to other serotonergic NSDs, their effect on body temperature was less robust. Thus, hyperthermia was most probably caused by increased behavioural activity rather than by a serotonin toxicity. Based on our findings, we evaluate mephedrone, methylone and naphyrone as substances acting mainly through dopaminergic neurotransmission with an addictive potential.

Obsah

ABSTRAKT.....	4
ABSTRACT.....	6
SEZNAM ZKRATEK.....	11
1. ÚVOD.....	14
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	16
2.1. Rozdělení nových syntetických drog.....	16
2.2. Syntetické Katinony.....	20
2.3. Kata jedlá – kolébka syntetických katinonů	20
2.4. Chemická struktura	21
2.4.1. Mefedron.....	22
2.4.2. Metylon.....	23
2.4.3. Nafyron	23
2.5. Mechanismus účinku	24
3. Serotoninový syndrom.....	26
4. Neurobiologie závislosti	28
5. Animální behaviorální modely	29
5.1. Test otevřeného pole (Open field, OF)	29
5.2. Test prepulzní inhibice úlekové reakce (PPI)	29
5.3. Test podmíněné preference místa (CPP).....	30

6.	CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY	31
7.	MATERIÁL A METODIKA.....	32
7.1.	Laboratorní potkani.....	32
7.2.	Drogy	32
7.2.1.	Mefedron.....	32
7.2.2.	Metylon.....	33
7.2.3.	Nafyron	33
7.3.	Ostatní látky	34
7.4.	Behaviorální metody.....	34
7.4.1.	Test otevřeného pole.....	34
7.4.2.	Test prepulzní inhibice.....	35
7.4.3.	Test podmíněné preference místa	35
7.5.	Tělesná teplota	36
7.6.	Mikrodialýza.....	37
7.7.	Farmakokinetika	37
7.8.	Statistická analýza dat.....	38
8.	VÝSLEDKY	40
8.1.	Test otevřeného pole.....	40
8.2.	Test prepulzní inhibice.....	43
8.3.	Podmíněná preference místa	44

8.4.	Tělesná teplota	45
8.5.	Farmakokinetika	47
8.6.	Akutní toxicita	48
8.7.	Mikrodialýza	48
9.	DISKUZE	51
10.	ZÁVĚR	56
11.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	58
12.	PUBLIKACE A PREZENTACE AUTORA	78
12.1.	Seznam publikací <i>in extenso</i> , které jsou podkladem disertační práce	78
12.2.	Seznam publikací <i>in extenso</i> , bez vztahu k disertační práci	79
13.	SEZNAM PŘÍLOH.....	80

SEZNAM ZKRATEK

α -PPP	α -Pyrrolidinopropiofenon
α -PVP	α -Pyrrolidinopentiofenon
2-AI	2-aminoindan
2C-B	4-brom-2,5-dimethoxyfenylethylamin
4-MeO-PCP	Metoxydin
5-HT	Serotonin
5-IAI	5-Iodo-2-aminoindan
5-MeO-DMT	5-methoxy-N,N-dimethyltryptamin
25B-NBOMe	N-(2-methoxybenzyl)-2,5-dimethoxy-4-bromofenethylamin
25I-NBOMe	2-(4-iodo-2,5-dimethoxyfenyl)-N-[(2-methoxyfenyl) methyl]ethanamin
AH-7921	3,4-dichloro-N- {[1-(dimethylamino)cyclohexyl]methyl} benzamid
AMT	Alfa-metyltryptamin
ANOVA	Analýza rozptylu
ASR	Acoustic startle response, akustická úleková reakce
AVG	Average, průměr
BAFA	Laboratoř forenzní analýzy biologicky aktivních látek
BZP	Benzylpiperazin
CA	Kalifornie
CB receptor	Kanabinoidní receptor
CBD	Kanabidiol
CNS	Centrální nervová soustava
CPP	Conditioned place preference, podmíněná preference místa
DA	Dopamin
DAT	Dopaminový transportér
DIPT	Diisopropyltryptamin
DMT	Dimethyltryptamin
DOB	2,5-dimethoxy-4-bromoamfetamin

EMCDDA	Evropské monitorovací centrum pro drogy a drogovou závislost
EU	Evropská unie
GIT	Gastrointestinální trakt
KO	Knock-out
LSD	N,N-diethylamid kyseliny lysergové
MAO	Monoaminoxidáza
mCPP	M-chlorofenylpiperazin
MDA	3,4-methylenedioxyamfetamin
MDAI	5,6-methylenedioxy-2-aminoindan
MDMA	3,4-methylenedioxymetamfetamin
MDMAI	5,6-methylenedioxy-N-methyl-2-aminoindan
MDPPP	3',4'-methylenedioxy- α -pyrrolidinopropiofenon
MDPV	Methylenedioxypropylamfetamin
MT-45	1-substituted-4-(1,2-diphenylethyl) piperazin
MWCO	Molecular weight cut off
MXE	Metoxetamin
NAcc	<i>Nucleus accumbens</i>
NBOMe	N-methoxybenzyl-methoxyfenylethylamin deriváty
NAT	Noradrenalinový transportér
NMDA	N-metyl-D-aspartát
NPS	Nové psychoaktivní substance
NSD	Nové syntetické drogy
OF	Open field, otevřené pole
PCP	Fencyklidin
PMA	Para-methoxyamfetamin
PMMA	Para-methoxymetamfetamin
PNS	Periferní nervová soustava
PPI	Prepulzní inhibice

s.c.	Subkutánně
SEM	Střední chyba průměru
SERT	Serotoninový transportér
TFMPP	3-trifluoromethylphenylpiperazin
THC	Delta-9-tetrahydrokanabinol
USA	Spojené státy americké
ÚSLTOX	Ústav soudního lékařství a toxikologie
VTA	Ventrální tegmentální oblast

1. ÚVOD

Nové syntetické drogy (NSD), nově také pod označením nové psychoaktivní substance (NPS), se s přelomem tisíciletí staly populární složkou drogové scény nejen v České republice, ale i po celém světě. Mezi širokou veřejností jsou NSD známe pod označením „designer drugs“, „legal highs“ či „bath salts“. V posledních deseti letech můžeme o NSD hovořit jako o fenoménu tanečních párty a večírků. V roce 2014 byl Evropským monitorovacím centrem pro drogy a drogovou závislost (EMCDDA) zaznamenán nárůst NSD o 101 nových látek. V roce 2016 už bylo monitorováno více jak 620 nových NSD, s přibližným nárůstem jedné NSD za týden (EMCDDA, 2017). Co do účinků jdou NSD napříč spektrem – mohou být stimulační, entaktogenní, halucinogenní ale i tlumivé. Jako dva hlavní důvody oblíbenosti a rozšíření NSD můžeme uvést jejich legálnost a zálibu uživatelů vyhledávat nové zážitky. Legislativní proces zařazení drog na seznam kontrolovaných omamných a psychoaktivních látek určitou dobu trvá a do té doby jsou vybrané NSD de facto povolenou nekontrolovanou drogou. Taktéž prekursory NSD jsou volně dostupné a nejsou monitorovány. Ve snaze výrobců a distributorů udržet se v legálních mezích zákona dochází k neustále novému produkování substancí s nejrůznějšími chemickými modifikacemi struktury (van Amsterdam et al., 2013). Tento fakt může mít fatální dopad na lidské zdraví. Různé chemické varianty NSD vycházející ze stejného prekurzoru se mohou zásadně lišit svou potencí a vzhledem k jejich rozmanitosti a počtu na trhu nejsou u většiny z nich k dispozici odborná data o akutních a chronických účincích, farmakologii a toxikologii. Informace o účincích NSD jsou čerpány především z diskusních fór na internetu, kde své zážitky popisují sami uživatelé, dále pak ze zdravotnických zařízení či soudně toxikologických laboratoří v případě vážné intoxikace či úmrtí (Elliott & Evans, 2014; Green et al., 2014; Tormey & Moore, 2013).

Jak již bylo zmíněno, informace o NSD převážně chybí nebo jsou nedostačující. Vzhledem k rychlosti, s jakou se NSD dostávají na trh a mezi uživatele, je stěžejním bodem porozumět neurobiologii účinku, návykovému potenciálu NSD a ohodnocení míry rizika spojeného s jejich užíváním. V rámci této disertační práce jsme ve spolupráci s Ústavem soudního lékařství a toxikologie (ÚSLTOX), 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a ve spolupráci s Laboratoří forenzní analýzy biologicky aktivních látek (BAFA), Vysoká škola chemicko-technologická v Praze uskutečnili evaluaci vybraných NSD z řad syntetických kationů a přispěli tak k rozšíření dostupných poznatků.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Rozdělení nových syntetických drog

Celá množina NSD skýtá nepřehledné množství chemických substancí a drogových skupin. Není zdaleka v možnostech této práce věnovat se detailnímu popisu každé z nich, a proto uvedeme pouze přehled základního členění; detailnější pohled lze nalézt v naší recentní publikaci „Nové psychoaktivní substance“ (Danda et al., 2020). Je zapotřebí na tomto místě zmínit, že NSD jsou dynamickou nesourodou skupinou a každým dnem se jejich počet rozrůstá o nové deriváty a chemické skupiny. Jelikož hlavní zaměření této práce je na stimulační NSD z řad syntetických katinonů, bude tato skupina podrobněji popsána v následující samostatné kapitole. Jedny z prvních syntetizovaných NSD byly látky ze skupiny fenyletylaminů a tryptaminů, které byly popsány a uvedeny do široké veřejnosti prof. Shulginem v knihách PiHKAL (Shulgin & Shulgin, 1991) a TiHKAL (Shulgin & Shulgin, 1997).

Fenyletylaminy. Fenyletylamin je látka, která se vyskytuje ve volné přírodě v rostlinách, ale i přirozeně v lidském těle. Zde je produkována mj. septem limbického systému (Burden & Philips, 1980). Fenyletylamin jako takový psychoaktivní účinky nemá, avšak jeho deriváty ano. Účinky jsou zejména stimulační, entaktogenní a halucinogenní. Popsaných derivátů fenyletylaminu je více jak 200. Mezi nejznámější patří klasické drogy jako amfetamin, metamfetamin či 3,4-methylendioxyamfetamin (MDMA neboli extáze). Z řad NSD jsou to pak např. 3,4-methylendioxyamfetamin (MDA), para-methoxyamfetamin (PMA), para-methoxymetamfetamin (PMMA), 4-brom-2,5-dimethoxyfenyletylamin (2C-B) či 2,5-dimethoxy-4-bromoamfetamin (DOB) či aktuálně se vyskytující vysoce potentní a současně toxická psychedelika charakterizovaná jako NBOMe – deriváty N-methoxybenzyl-methoxyfenyletylaminu, např. N-(2-methoxybenzyl)-2,5-dimethoxy-4-bromofenethylamin

(25B-NBOMe), 2-(4-Iodo-2,5-dimethoxyfenyl)-N-[(2-methoxyfenyl)methyl]ethanamin (25I-NBOMe) apod. (Laskowski et al., 2015).

Tryptaminy jsou látky, které se také vyskytují přirozeně v přírodě v houbách, rostlinách a v mozku savců, kde plní funkci neurotransmiteru a neuromodulátoru. Neméně důležitou roli v neurobiologii mozku hrají i deriváty tryptaminu – serotonin (5-HT) a melatonin (Jones, 1982; Kousara et al., 2017). Psychoaktivní deriváty tryptaminu přírodního původu můžeme najít např. v houbách rodu *psilocybe* (psilocin), v rostlinách rodu *mimosa* (Dimethyltryptamin, zkráceně DMT) či v jedu ropuchy *Bufo alvarius* (5-methoxy-N,N-dimethyltryptamin, zkráceně 5-MeO-DMT). Taktéž rostlinný lektvar amazonských šamanů *ayahuasca* připravený z liány *banisteropsis caapi* a rostliny *psychotria viridis* obsahuje mimo jiné látku DMT (Griffiths et al., 2019; Weil & Davis, 1994). Mezi syntetické deriváty řadíme známý N,N-diethylamid kyseliny lysergové (LSD), alfa-metyltryptamin (AMT), diisopropyltryptamin (DIPT). Deriváty tryptaminu jsou vyhledávány pro své halucinogenní účinky.

Syntetické piperaziny jsou pro své stimulačně entaktogenní účinky prodávány zejména jako náhražka za MDMA či jsou přidávány jako příměsi do tablet a vydávány za MDMA (Kersten & McLaughlin, 2015). Ne všechny deriváty piperazinu mají psychoaktivní účinky a řada z nich se používá v klasické medicíně jako antihistaminika či antidepressiva (Abou-Gharbia et al., 1995; Brito et al., 2019). Mezi NSD odvozených od piperazinů patří např. benzylpiperazin (BZP), 3-trifluoromethylphenylpiperazin (TFMPP) či m-chlorofenylpiperazin (mCPP).

Syntetické kanabinoidy jsou velkou a nesourodou skupinou. Jelikož se v této práci zabýváme stimulanty z řad katinonů, uvedeme jen základní členění a přehled. Na základě chemické struktury můžeme syntetické kanabinoidy rozdělit do 4 skupin: 1) deriváty indol 3-karboxylu 2) 3-karbonilamodové deriváty 3) 3-karbonilové deriváty pyrrolu a indazolu 4) 3-

karbonylesterové deriváty indolu nebo indazolu (Castaneto et al., 2014; Seely et al., 2012; Spaderna et al., 2013). Tyto látky byly iniciálně vyrobeny vědci po celém světě za účelem testování interakcí kanabinoidního systému, konkrétně CB₁ a CB₂ receptorů. Ačkoliv již některé designované deriváty byly známy již řadu let, na drogovém trhu se objevily teprve během minulého desetiletí jako přídavek k rostlinným směsím. Mezi nejznámější svého času patřily Spice, K2 nebo JWH (ElSohly et al., 2014), termín Spice se pak uchytil jako obecný název pro tyto směsi. Svým účinkem jsou syntetické kanabinoidy podobné účinkům delta-9-tetrahydrocannabinolu (THC), některé i kanabidiolu (CBD). V porovnání s přírodními kanabinoidy mají ovšem často násobně vyšší afinitu a aktivitu na receptorech kanabinoidního systému a mohou vyvolávat závažné intoxikace (Kersten & McLaughlin, 2015).

Syntetické opioidy. Stejně jako mnohé výše zmíněné skupiny NSD, mají i syntetické opioidy své kořeny ve vědeckém výzkumu. V 70. letech 20.století vzniklo mnoho derivátů, které měli potenciál nahradit morfin. Ve většině případů se jednalo o deriváty fentanylu, které jsou stále nejrozšířenějšími zneužívanými látkami v této skupině (Armenian et al., 2017; Prekupec et al., 2017). Syntetické opioidy mají stejný mechanismus účinku jako klasické opioidy, tedy přes μ -opiodiní receptory v CNS, PNS a GIT (Pathan & Williams, 2012). Svým účinkem jsou ale násobně potentnější a tím pádem hrozí riziko snadného předávkování. Jako příklad můžeme uvést syntetický opioid karfentanil, který je 10.000x potentnější než morfin a 100x než fentanyl (George et al., 2010) a na jehož předávkování zemřela řada lidí v USA i v Evropě (O'Donnell et al., 2020; Swanson et al., 2017). Další zástupci této skupiny jsou 1-substituted-4-(1,2-diphenylethyl) piperazin (MT-45), 3,4-dichloro-N- $\{[1-(\text{dimethylamino})\text{cyclohexyl}]\text{methyl}\}$ benzamid (AH-7921), desomorfin (Krokodil).

Disociativní anestetika z řad NSD mají stejný mechanismus účinku jako klasická disociativní anestetika, tedy z pravidla agonisté N-metyl-D-aspartátových (NMDA) glutamátových receptorů. Mezi prvním disociativním anestetikem nabízeným na drogovém trhu byl fencyklidin (PCP), který byl postupně nahrazen novými syntetickými disociativními anestetiky jako metoxydin (4-MeO-PCP), metoxetamin (MXE) či deschlorketamin (Morris & Wallach, 2014). Syntetická disociativní anestetika jsou vyhledávána pro svou potenci v nízkých dávkách a klasické účinky pro tuto skupinu, tedy derealizace, odpojení od vnějšího světa, pocit klidu a porozumění sobě samému (Corazza et al., 2012; Horsley et al., 2016).

Syntetické aminoindany jsou z pohledu NSD poměrně nově se vyskytující skupinou. Počátek aminoindanů můžeme vystopovat ve 40. a 60. letech 20. století, kdy se zkoumal jejich bronchodilatační, vasokonstriční a analgetický potenciál (Levin et al., 1944; Solomons & Sam, 1973). Psychoaktivní účinek aminoindanů se ovšem do popředí zájmu dostal až se zavedením nové třídy drog – entaktogeny/empatogeny (Nichols et al., 1986). Cílem bylo najít látku, která bude mít stejné účinky jako MDMA, ale nebude jevit známky neurotoxicity a bude se moci využít pro facilitaci psychoterapie (Nichols & Oberlender, 1990). Syntetické aminoindany se na trhu objevily po roce 2009 jako náhrada za kontrolované syntetické katinony a piperaziny (EDND, 2017). Jeden z prvních syntetických aminoindanů byl 5,6-methylenedioxy-2-aminoindan (MDAI), dále pak můžeme zmínit 5,6-Methylenedioxy-N-methyl-2-aminoindan (MDMAI), 2-Aminoindan (2-AI) nebo 5-Iodo-2-aminoindan (5-IAI). Více o tématu syntetických aminoindanů v příložené publikaci autora „Synthetic Aminoindanes: A Summary of Existing Knowledge“ (Pinterova et al., 2017).

2.2. Syntetické Katinony

2.3. Kata jedlá – kolébka syntetických katinonů

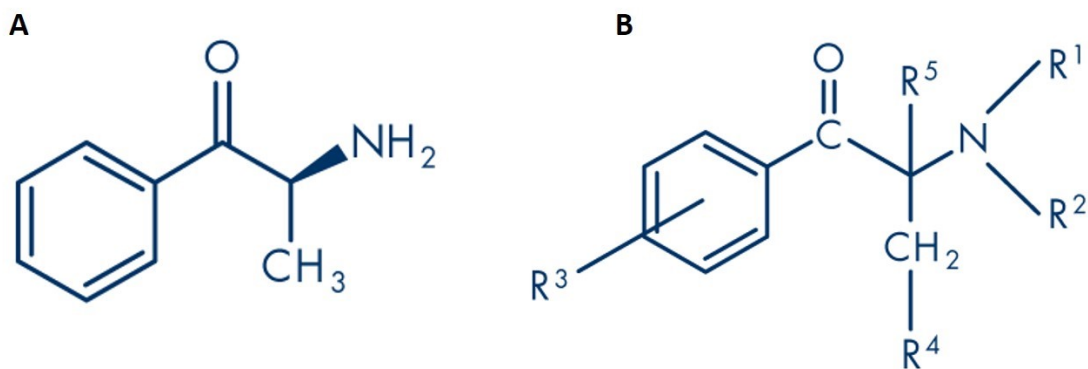
Kata jedlá (*catha edulis*) je nízký stromek či keř dorůstající výšky až 5 m. Její přirozené místo výskytu je východní rovníková Afrika a Arabský poloostrov. Největší popularitě se pak těší v Jemenu (zabírá plochu až 40% zemědělské půdy), Džibuti či Etiopii. Pro své psychoaktivní účinky zahrnující euforii, komunikativnost, družnost a celkovou stimulaci je v muslimských zemích do značné míry náhražkou alkoholu, který je tomuto náboženství zapovězeno. Konzumace katy je v mnoha případech již součástí kultury, sociálních kontaktů a rituálů po celá staletí. Žvýkají se čerstvé listy a výhonky, které mají největší obsah alkaloidu katinonu a katinu. Oba alkaloidy mají psychostimulační účinky a jsou na seznamu kontrolovaných látek (Balint et al., 2009).

Psychoaktivní alkaloid katin byl z listů katy izolován již v roce 1887 a až do 60.let 20. století byl považován za hlavní psychoaktivní složku. Teprve roku 1975 byl pak izolován katinon a proběhly studie zabývající se otázkou, který alkaloid je dominantní psychoaktivní agens (Patel, 2000; Szendrei, 1980). Dnes již víme, že je to katinon, který se uvolňuje žvýkáním mladých listů. Ten je velice labilní a rozpadá se na katin a norefedrin (Balint et al., 2009). Ačkoliv má katinon podobné účinky jako amfetamin a působí obecnou stimulaci a euforii, jeho potence je nižší. V první polovině 20. století pak byl syntetizován první katinon – metkatinon – (efedron) za účelem vývoje alternativní látky k efedrinu (Hyde et al., 1928). O rok později byl poprvé syntetizován 4-methylmethkathinon (mefedron, známý také jako 4-MMC nebo jako droga mňau mňau), jenž se na počátku 21. století stal jednou z nejpobulárnějších rekreačních NSD (Valente et al., 2014).

2.4. Chemická struktura

Ačkoliv má katinon podobnou strukturu jako amfetamin, jsou katinony často vyčleňovány do samostatné skupiny mimo fenyletylaminy. Na rozdíl od amfetaminu má katinon navázanou β -keto skupinu na β -uhlíku řetězce, jsou to tedy β -keto-amfetaminy. Syntetické katinony jsou pak různě modifikovány substituenty na pozicích vedlejšího řetězce (Obr. 1) (Karila et al., 2014).

Z chemického hlediska se syntetické katinony dají rozdělit do 4 skupin. 1) N-alkylace na pozici R1 a/nebo R2, případně R3 (efedron, mefedron) 2) 3,4-methylenedioxy na benzylovém kruhu (metylon, etylon) 3) pyrrolidinová substituce na atomu dusíku – α -pyrrolidinopropiophenon (α -PPP), α -pyrrolidinopentiophenon (α -PVP) 4) kombinace skupiny 2 a 3, tedy látky obsahující 3,4-methylenedioxy a N-pyrrolidinovou skupinu – Methylenedioxypropyvaleron (MDPV), 3',4'-Methylenedioxy- α -pyrrolidinopropiophenon (MDPPP). Mimo právě zmíněné skupiny stojí naftylypyrovaleron (nafyron), který má ve své struktuře naftylový kruh a patří mezi syntetické katinony druhé generace (Valente et al., 2014).



Obr. 1: Chemická struktura katinonu (A) a obecná struktura derivátů vycházejících z katinonu (B). Převzato z (EMCDDA, 2012).

2.4.1. Mefedron

Jedna z prvních rekreačních NSD, která se stala široce rozšířenou a populární, byl mefedron (Brunt et al., 2011). Ačkoliv byl mefedron prvně syntetizován roku 1929 za účelem terapeutického využití (Kelly, 2011; Valente et al., 2014), teprve na počátku 21. století byl objeven drogovým trhem. Uživatelé se stal velice populární pro své psychoaktivní účinky a byl hojně užíván na tanečních párty pod jménem „meow meow (mňau mňau)“ či „M-Cat“ (Hill & Thomas, 2011; Iversen et al., 2013). Pro svojí nízkou cenu a legálnost se ve Velké Británii stal rychle stejně rozšířený jako kokain (Winstock et al., 2011). V dubnu 2010 byl mefedron přidán na seznam kontrolovaných látek nejprve Velkou Británií, později i ostatními státy Evropské unie (EU). V roce 2012 byl pak mefedron zakázán i v USA (Green et al., 2014).

Subjektivní účinky uživatelů jsou popisovány jako účinky amfetaminu, kokainu, MDMA či jejich kombinace. Jsou to zejména euforie, stimulační efekt, zvýšená empatie a afrodiziakální účinky (Assi et al., 2017; Carhart-Harris et al., 2011). Způsob podání je nejčastěji orální a intranazální (šňupáním), objevuje se i injekční (Wood et al., 2010). Typická střední dávka při orálním podání je 100-200 mg (Measham et al., 2010). Mezi hlavní nežádoucí efekty mefedronu patří bruxismus, pocení, bolest hlavy, úzkost, panika, halucinace (Carhart-Harris et al., 2011; Dargan et al., 2010). V Maďarsku byl mefedron kolem roku 2010 dokonce užíván jako náhrada za heroin, který byl v té době těžko k dostání a ve špatné kvalitě (Rácz et al., 2015). S mefedronem je spojována řada vážných intoxikací a úmrtí – předávkování, sebevraždy, srdeční zástava, bronchopneumonie aj. (Adamowicz et al., 2013; Dickson et al., 2010; Graham et al., 2014; Loi et al., 2015; Schifano et al., 2012; Wood et al., 2011).

2.4.2. Metylon

Metylon byl poprvé syntetizován roku 1996 jako antidepresivum a antiparkinsonikum (Jacob & Shulgin, 1996), nicméně pro tyto účely pak nebyl nikdy využit. Na drogovém trhu se metylon poprvé objevil v Nizozemí v roce 2004 pod názvem „Explosion“ a následně se rozšířil po celém světě (Bossong et al., 2005; Spiller et al., 2011). Od roku 2005 byl metylon již monitorován EMCDDA a v dubnu 2010 byl spolu s mefedronem umístěn na seznam kontrolovaných látek ve Velké Británii (Ramsey et al., 2010). V USA byl metylon kontrolovanou substancí následující rok a následovaly i ostatní země EU (Karila et al., 2016).

Metylon má strukturně velice blízko k MDMA – liší se pouze přítomností ketonovou skupinou na benzylové pozici – což se odráží i na jeho podobných účincích a alternativním názvu beta-keto-MDMA (bk-MDMA) (Cozzi et al., 1999; Iversen et al., 2014). Po požití metylonu přichází stimulace, mírná euforie, zvýšená empatie a pozornost (Karila et al., 2016). V subjektivním hodnocení uživatelů nicméně metylon svými účinky zaostává za MDMA (Bossong et al., 2005; López-Arnau et al., 2012). Nejčastější způsob podání je orálně, pak intranasálně, rektálně i injekčně (Karila et al., 2016). Střední dávka pro orální podání je 100 – 250 mg (Warrick et al., 2012). Nežádoucí účinky metylonu jsou stejné jak pro ostatní syntetické katinony, bruxismus, tachykardie, pocení, zvýšená tělesná teplota, úzkost (Karila et al., 2016; Prosser & Nelson, 2012). S užitím metylonu jsou spojované závažné intoxikace a úmrtí – sebevraždy, srdeční zástava, křečové záchvaty aj. (Cawrse et al., 2012; Pearson et al., 2012; Warrick et al., 2012).

2.4.3. Nafyron

Jak bylo zmíněno výše, nafyron je syntetický katinon obsahující pyrrolidinový substituent a naftylový kruh (Valente et al., 2014). Bezprostředně poté, co byl mefedron a

metylon v dubnu 2010 přidán na seznam kontrolovaných látek ve Velké Británii, nifyron se objevil na trhu jako jeho legální alternativa pod názvem Energy-1, NGR-1 (Luethi et al., 2017). Nicméně již v červenci téhož roku byl na seznamu kontrolovaných látek i nifyron (Brandt et al., 2010).

Účinek nifyronu je podobný jako mefedronu, tedy euforie, veselá nálada, stimulace mentálního výkonu a empatie. V porovnání s mefedronem je ale ke kýženému efektu potřeba menší dávka (střední dávka při orálním podání pro mefedron je 100-200 mg, pro nifyron pouze 20-35 mg). Jako nežádoucí účinky jsou popisovány pocení, tachykardie, hypertenze, zvýšená tělesná teplota (Assi et al., 2017; Jebadurai et al., 2013; Measham et al., 2010).

2.5. Mechanismus účinku

Syntetické katinony jsou potentními inhibitory monoaminových transportérů, konkrétně dopaminového transportéru (DAT), noradrenalinového transportéru (NAT) a serotoninového transportéru (SERT), avšak selektivita k těmto transportérům se mezi jednotlivými substancemi liší (Baumann et al., 2012; Simmler et al., 2013). Důsledkem toho dochází ke zvýšení synaptické hladiny katecholaminů (především dopaminu, noradrenalinu a serotoninu), zvýšení stimulace postsynaptických receptorů a dostavuje se požadovaný efekt stimulace a euforie. Tento mechanismus je ještě podpořen zvýšeným vyplavováním katecholaminů z presynaptického neuronu či inhibicí enzymů, které je odbourávají (Coppola & Mondola, 2012).

V závislosti na to, v jakém poměru jsou DAT a SERT inhibovány, tzv. DAT/SERT ratio, můžeme odvodit účinky jednotlivých syntetických katinonů. Zástupce entaktogenů MDMA selektivně inhibuje SERT a DAT/SERT ratio je 0.08 (Simmler et al., 2013), potence vyplavení DA/5-HT ratio je 0.97 (Baumann et al., 2012), viz Tab.1. Účinek MDMA je zejména dobrá

nálada a lehká stimulace. Oproti tomu metamfetamin, klasický stimulant, je více selektivní pro DAT a jeho DAT/SERT ratio je >10 , potence výlevu DA/5-HT ratio je 152 (Baumann et al., 2012), viz Tab.1. Účinky metamfetaminu jsou primárně stimulační. Na základě DAT/SERT ratia a schopnosti indukovat výlev neurotransmiterů, rozdělili Simmler et al. (2013) syntetické katinony do následujících skupin:

1. MDMA-kokainu podobné: substance, které mají podobně jako kokain relativně neselektivně inhibují monoaminové transportéry. Řadíme sem např. mefedron, metylon, etylon, butylon a nafyron. S výjimkou nafyronu všechny zmíněné substance působí i výlev 5-HT.
2. Metamfetaminu podobné: substance, které podobně amfetamin a metamfetamin inhibují hlavně DAT a NET a zároveň působí výlev dopaminu. Řadíme sem katinon, metkatinon, flefedron.
3. Pyrovaleronové: substance, které působí vysoce selektivně a potently na inhibici DAT a NET. Řadíme sem pyrovaleron, MDPV či α -PVP (známý také jako droga „Flakka“).

Přes hematoencefalickou bariéru procházejí syntetické katinony hůře než amfetaminy. Je tomu tak kvůli navázané β -keto skupině, díky níž jsou více polární. Výjimku tvoří pyrrolidinové deriváty (MDPV, nafyron apod.) (Coppola & Mondola, 2012; Krikorian, 1984; Zawilska & Wojcieszak, 2013).

Změny v hladinách neurotransmiterů vyvolané působením NSD mohou vést k patologickým a životu nebezpečným stavům. V případě syntetických katinonů jde hlavně o zdravotní rizika spojená s nadměrným množstvím serotoninu a dopaminu. V prvním případě hrozí vznik serotoninového syndromu, v druhém případě možný vznik závislosti. Tato tematika bude popsána následujících samostatných kapitolách.

Substance	DAT IC ₅₀ (μM)	SERT IC ₅₀ (μM)	DAT/SERT ratio
MDMA	17	1.36	0.08
Etylon	5.68	4.46	0.8
Mefedron	3.31	4.64	1.4
Nafyron	0.47	0.96	2.0
Butylon	2.90	6.22	2.1
Kokain	0.768	2.37	3.1
Metylon	4.82	15.5	3.3
Flefedron	6.35	>10	5.8
Katinon	14.0	>100	>10
Metkatinon	1.12	>10	>10
Amfetamin	1.30	>10	>10
Metamfetamin	1.05	>10	>10
Pyrovaleron	0.035	13.0	>100
MDPV	0.031	9.30	>100
α-PVP	0.04	>100	>1000

Tab. 1: Přehled poloviční inhibiční koncentrace (IC₅₀) pro DAT a SERT a DAT/SERT ratio. Řazeno dle DAT/SERT ratio vzestupně. Převzato a upraveno dle Simmler et al. (2013) a Rickli et al. (2015).

3. Serotoninový syndrom

Serotonin hraje důležitou roli nejen v centrální nervové soustavě (CNS), ale i v periferní nervové soustavě (PNS). V PNS se serotonin účastní vazokonstrikci hladkého svalstva, agregace trombocytů, děložních kontrakcí, střevní peristaltiky a bronchokonstrikce. V CNS má serotonin hlavní roli v řízení nálady, pozornosti, percepce, kontrole motorických funkcí, spánku, teploty a sexuální funkce. Jelikož serotonin není schopen přejít přes hematoencefalickou bariéru, je produkován separátně v CNS (*raphe nuclei*) a PNS (enterochromafinní buňky) (Ener et al., 2003).

Když dojde k depolarizaci membrány, serotonin se vyplaví do synaptické štěrby. Zde se může navázat na postsynaptické či presynaptické serotoninové receptory (5-HT receptory). Celkem je známo 7 rodin 5-HT receptorů (Volpi-Abadie et al., 2013). Serotonin je ze synaptické štěrby buď zpětně vychytáván pumpami nebo degradován pomocí monoamin oxidáz (MAO) dvou typů: MAO-A a MAO-B. MAO-A má větší afinitu k serotoninu, MAO-B má větší afinitu ke katecholaminům (Sporer, 1995). V momentě, kdy je v CNS i PNS nadbytek serotoninu, který nadměrně aktivuje 5-HT receptory, a nefungují mechanismy jeho regulace – zpětné vychytávání či degradace – dochází k rozvoji serotoninového syndromu (Volpi-Abadie et al., 2013).

Symptomy serotoninového syndromu můžeme rozdělit do 3 skupin 1) neuromuskulární hyperaktivita 2) hyperaktivita autonomního nervstva 3) poruchy mentálního stavu (Dvir & Smallwood, 2008). Jednotlivé symptomy jsou rozepsány v Tab. 2. V případě animálního modelu jsou popisovány behaviorální projevy serotoninového syndromu jako změny tělesné teploty, salivace, pocení, abnormální pohyby končetin, naježená srst, prohnutý a zvednutý ocas (Green et al., 1995; Palenicek et al., 2011, 2016; Spanos & Yamamoto, 1989).

	Symptomy
Neuromuskulární hyperaktivita	tremor, hyperreflexie, hypertonie, myoklonus, bruxismus, ataxie, nystagmus
Hyperaktivita autonomního nervstva	mydriáza, tachykardie, arytmie, tachypnoe, průjem, zvracení, bolesti břicha, hypertermie, hypertenze
Poruchy mentálního stavu	agitace, strach, excitace, hyperaktivita, neklid, dezorientace, halucinace, delirium

Tab. 2: Přehled symptomů serotoninového syndromu

Se serotoninovým syndromem byla asociována řada léčiv (některá antidepresiva, antipsychotika, antibiotika, analgetika apod.) a drog (Scotton et al., 2019), mimo jiné i syntetické katinony (Warrick et al., 2012; Zaami et al., 2018).

4. Neurobiologie závislosti

Drogová závislost je chronické recidivující onemocnění charakterizované kompulsivním chováním ve snaze obstat a požit drogu, ztrátou kontroly nad jejím užíváním a vznikem negativních emočních stavů pokud droga není dostupná (Koob & Volkow, 2010). Nekontrolované bažení (craving) po droze potlačuje ostatní chování, závislá osoba užívá drogu i přes její nezdravé, život ohrožující následky (Vetulani, 2001).

Jedna z klíčových oblastí pro rozvoj závislosti je systém odměny. Hlavním neurotransmiterem v tomto systému je dopamin a jeho mezokortiko-limbická dráha: z ventrální tegmentální oblasti (VTA) do limbického systému (zejména *nucleus accumbens*, NAcc) a následně do prefrontálního kortexu (Wise & Rompre, 1989). Za fyziologických podmínek se hladiny dopaminy v těchto strukturách zvyšují, pokud se věnujeme libým činnostem jako je příjem potravy, pití či sexuální aktivitě (Vetulani, 2001). Pokud je organismus vystaven působení návykových látek, hladiny dopaminu v NAcc se zvyšují a je narušena neurotransmise v celé oblasti. Organismus nedokáže rozlišit, zda aktivace systému odměny je uměle vytvořena drogou či přirozeným podmětem, a tak se celý proces požití drogy a libých pocitů posílí jako pozitivní a zvýší se jeho frekvence opakování (Kopnisky & Hyman, 2002). Přirozené podněty vyvolávající libé pocity pak nedokáží přebít efekt drogy a závislá osoba tak pro navození příjemných pocitů musí opět užít drogu (Hyman et al., 2006). Při chronickém užívání návykových látek pak nastávají molekulární adaptivní mechanismy v dopaminergní transmissi, které mohou vyústit v toleranci, senzitivizaci, závislost a kompulzivitu (Kopnisky & Hyman, 2002; Vetulani, 2001).

5. Animální behaviorální modely

5.1. Test otevřeného pole (Open field, OF)

OF test je hojně používán pro evaluaci chování a provádí se v otevřené čtvercové aréně. V rámci tohoto testu lze ohodnotit míru lokomoční aktivity, exploraci a anxiety. Při měření lokomoční aktivity se nejčastěji používá celková délka trajektorie. Pro měření anxiety se pak sleduje prostorová distribuce pohybu – pohyb u stěn vs. pohyb ve středu arény. Pohyb u stěn (tigmotaxe) se dává do souvislosti s anxiétou, kterou lze hodnotit i mírou defekace. Mezi další prvky, které lze hodnotit spadá čištění (grooming), explorativní čenichání (sniffing), panáčkování (rearing), nehybnost apod. (Gould et al., 2009; Seibenhener & Wooten, 2015).

Při podání návykových látek dochází k narušení typických vzorců chování. V případě stimulantů bývá často lokomoce zvýšená a objevují se stereotypické prvky chování (Páleníček et al., 2005).

5.2. Test prepulzní inhibice úlekové reakce (PPI)

Prepulzní inhibice je neurologický fenomén, při kterém slabší stimul (prepulz) zeslabuje úlekovou reakci na následný silnější stimul (pulz). Při testu se nejčastěji používá zvukový stimul a úleková reakce se hodnotí motorickou odpovědí. Úleková reakce na samotný pulz by měla být větší, než na pulz předcházený prepulzem (Bubeníková et al., 2002). Prepulzní inhibice odráží schopnost nervového systému filtrovat senzomotorické informace přicházející z okolního prostředí. Pokud je senzomotorické zpracování narušeno, má to za následek zahlcení nepotřebnými informacemi a deficit kognitivních funkcí (Butler et al., 1990; Weiss & Feldon, 2001).

Senzomotorické zpracování je typicky narušeno při patologických stavech jako jsou psychózy, ale bývá narušeno i intoxikací drogami (zejména halucinogeny a stimulanty) či jinými farmaky (Páleníček et al., 2005; Perry et al., 2001).

5.3. Test podmíněné preference místa (CPP)

Podmíněná preference místa je behaviorální test, který slouží k hodnocení adiktivního potenciálu návykových látek a je neinvazivní alternativou k testům self-administrace. Jak již název napovídá, hlavním principem je podmiňování, kdy se podání návykové látky kontextuálně páruje se stále stejným podnětem (většinou vzor arény, podlážky v aréně apod.) (Bardo & Bevins, 2000). V odlišně vypadající aréně pak zvířata dostávají neaktivní látku. Obě arény jsou součástí jedné aparatury. Před samotným podmiňováním a po skončení podmiňování je zvíře vypuštěno volně do celé aparatury s přístupem do obou arén a sleduje se čas trávený v každé z nich. Pokud se v závěrečném testu zvíře zdržuje převážně v aréně párované s návykovou látkou, hodnotí se tento výsledek jako adiktivní potenciál dané látky (Bardo & Bevins, 2000; Cunningham et al., 2006).

6. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY

Vzhledem k tomu, že jsme se v této práci zaměřili na NSD se stimulačními účinky, a to zejména z řad katinonů, bylo naším cílem 1) zhodnotit míru intenzity stimulačních účinků 2) zhodnotit míru narušení senzomotorického zpracování 3) zhodnotit akutní toxicitu z hlediska rizika hypertermie 4) zhodnotit návykový potenciál. Zjištěné poznatky byly porovnány s účinkem již známých, dobře prozkoumaných drog jako je MDMA, kokain, amfetamin apod. Disertační práce byla sepsána v rámci grantového projektu Ministerstva vnitra ČR „Nové syntetické drogy – komplexní mezioborové výzkumné centrum“ (VI20172020056).

V rámci této disertační práce jsme pracovali s následujícími hypotézami 1) NSD s převažujícím serotonergním mechanismem účinku mají vyšší riziko vzniku hypertermie 2) NSD s převažujícím dopaminergním mechanismem účinku mají vyšší riziko vzniku závislosti 3) NSD s převažujícím dopaminergním mechanismem účinku mají vyšší riziko narušení senzomotorického zpracování.

7. MATERIÁL A METODIKA

7.1. Laboratorní potkani

Dospělí samci laboratorního potkana kmene Wistar (Velaz, Česká republika) byli ustájeni v párech či po čtyřech, dle velikosti zvířat, v plastových boxech v režimu 12/12 h světlo/tma. V případě, že jednalo o zvířata z mikrodialyzačního experimentu byli potkani po stereotaktické implantaci umístěni v kleci samostatně, aby si neponičili implantovaný vodič. Boxy s potkany byly umístěny v klimatizované místnosti s nepřetržitou kontrolou teploty (22 ± 2 °C) a vlhkosti (30–70 %). Přístup k vodě a potravě *ad libitum*. Aklimatizace potkanů trvala po dobu nejméně 7 dní, kdy byli zároveň hendlováni a váženi. Všechny experimenty byly provedeny v souladu se Směrnicí Evropského parlamentu a Rady 86/609/EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely a byly schváleny Národní referenční laboratoří pro ochranu laboratorních zvířat pod číslem: MEYSCR-27527/2012-31. V behaviorálních testech otevřeného pole (OF), prepulzní inhibice (PPI), v termoregulačním experimentu a mikrodialýze byl experimentální design $n = 10$ /skupina. V experimentu podmíněné preference místa (CPP) bylo $n = 13$ /skupina. Pro farmakokinetické měření $n = 8$ /skupina. Každý jedinec byl testován pouze jednou. Z důvodu minimalizace počtu použitých zvířat byli potkani z behaviorálních pokusů utraceni v různých časových rozestupech od aplikace s cílem stanovení farmakokinetiky a distribuce látek.

7.2. Drogy

7.2.1. Mefedron

Mefedron byl zakoupen prostřednictvím internetu a následně konvertován na mefedron hydrochlorid společností Alfarma s.r.o. (Česká republika) s deklarací 99.18 % čistoty (analyzováno infračervenou spektroskopií). Purifikovaný mefedron byl zároveň výchozím

standardem pro farmakokinetickou analýzu za použití kapalinové chromatografie. Skladování mefedronu bylo na suchém a tmavém místě, bezprostředně před experimentem byl rozpuštěn ve fyziologickém roztoku (0.9 % NaCl) a aplikovány s.c. v objemu 2 ml/kg. Použité dávky do behaviorálních pokusů: OF, PPI 2.5, 5 a 20 mg/kg; termoregulační experiment 5 a 20 mg/kg; farmakokinetika 5 mg/kg.

7.2.2. Metylon

Metylon byl zakoupen prostřednictvím internetu a následně přečištěn a konvertován na metylon hydrochlorid společností Alfarma s.r.o. (Česká republika) s deklarací 99.18 % čistoty (analyzováno infračervenou spektroskopií). Purifikovaný metylon byl zároveň výchozím standardem pro farmakokinetickou analýzu za použití kapalinové chromatografie. Skladování metylonu bylo na suchém a tmavém místě, bezprostředně před experimentem byl rozpuštěn ve fyziologickém roztoku (0.9 % NaCl) a aplikovány s.c. v objemu 2 ml/kg. Použité dávky do behaviorálních pokusů: OF, PPI 5, 10 a 20 mg/kg; termoregulační experiment 10 a 20 mg/kg; farmakokinetika 10 mg/kg; akutní toxicita 40 mg/kg.

7.2.3. Nafyron

Nafyron byl zakoupen prostřednictvím internetu a následně přečištěn a konvertován na nafyron hydrochlorid společností Alfarma s.r.o. (Česká republika) s deklarací 99.88 % čistoty (analyzováno infračervenou spektroskopií). Purifikovaný nafyron byl zároveň výchozím standardem pro farmakokinetickou analýzu za použití kapalinové chromatografie. Skladování nafyronu bylo na suchém a tmavém místě, bezprostředně před experimentem byl rozpuštěn ve fyziologickém roztoku (0.9 % NaCl) a aplikován s.c. v objemu 2 ml/kg. Použité dávky do behaviorálních pokusů: OF, PPI, CPP 5, 10 a 20 mg/kg; termoregulační experiment 20 mg/kg; farmakokinetika 10 mg/kg.

7.3. Ostatní látky

Metamfetamin hydrochlorid byl získán darem od Kriministického ústavu Praha, přečištěný na čistotu $\geq 98\%$. Skladování metamfetaminu bylo na suchém a tmavém místě, bezprostředně před experimentem byl rozpuštěn ve fyziologickém roztoku (0.9 % NaCl) a aplikovány s.c. v objemu 2 ml/kg a dávce 1.5 mg/kg v CPP experimentu a 1 m/kg v mikrodialyzačním experimentu.

7.4. Behaviorální metody

7.4.1. Test otevřeného pole

OF čtvercová aparatura byla vyrobena z černého plastu o rozměrech 68 cm x 68 cm x 30 cm a umístěna ve zvukotěsné místnosti s tlumeným rovnoměrně rozptýleným světlem. Aktivita potkana v aparatuře byla zaznamenávána automatickým sledovacím video systémem (EthoVision Color Pro v. 3.1.1, Noldus, Nizozemí). Potkan byl po aplikaci látky umístěn do středu arény a po dobu 30 min mu byl umožněn volný pohyb. Čas, kdy bylo zvíře do arény umístěno, se liší v závislosti na farmakokinetice dané látky (5 min, 15 min, 40 min nebo 60 min po aplikaci). Po každém testu byla aparatura omyta 50 % roztokem etanolu, aby se smyly pachové stopy.

Pro potřeby analýzy byla aréna OF virtuálně rozdělena na 5 x 5 identických čtverců, kdy 16 čtverců tvořily periferní zónu arény a 9 čtverců představovalo centrální zónu arény. Měřenými proměnnými pak byly (i) čas strávený v centrální zóně; T_{center} ($\Sigma time_{centrální\ zóna}$) (ii) tigmataxe ($\Sigma f_{periferní\ zóna} / \Sigma f_{všechny\ zóny}$, f = frekvence výskytu v zóně) (iii) celková lokomoce (cm) (iv) lokomoce v 5 min intervalu. OF test a následná analýza byla shodná s předchozími publikovanými pracemi (Horsley et al., 2016; Palenicek et al., 2011, 2013, 2016).

7.4.2. Test prepulzní inhibice

Pro měření úlekové reakce a prepulzní inhibice byly použity 2 úlekové komory (SR-LAB, San Diego Instruments, CA, USA) se stabilizačním válcem z plexiskla (vnitřní průměr 8.7 cm). Intenzita bílého šumu pozadí byla nastavena na 75 dB. Experimentální design byl převzatý z předešlých studií (Horsley et al., 2016; Palenicek et al., 2011, 2013, 2016) a byl následující: 2 dny před samotným testem proběhla aklimatizace, kdy byli potkani vystaveni 6ti úlekovým pulzům (115 dB/20 ms). V samotném experimentu byli potkani po aplikaci látky umístěni do úlekové komory (čas, kdy bylo zvíře do komory umístěno, se liší v závislosti na farmakokinetice dané látky – 5 min, 15 min, 40 min nebo 60 min po aplikaci) a následoval 5 min blok s prezentací akustického bílého šumu, který byl zakončen 6-ti úlekovými pulzy (125 dB/40 ms). Vlastní test se skládal z 60-ti pseudorandomizovaných sekvencí: (i) úlekový pulz (125 dB/ 40 ms) (ii) prepulz-pulz (83 dB/ 20 ms nebo 91 dB/ 20 ms prepulz následovaný pulzem 125 dB/ 40 ms v intervalu 30, 60 nebo 120 ms; mezistimulový interval (průměr 70 ms) (iii) žádný stimulus 60 ms. Test byl zakončen 6ti úlekovými pulzy (125 dB/ 40 ms). Celkový počet sekvencí byl 72 s intervalem 4–20 s (průměr 12.27 s).

Habituační byla vyjádřena procentuálním snížením úlekové reakce úvodních 6-ti úlekových pulzů v porovnání se závěrečnými 6ti úlekovými pulzy. Výpočet PPI byl dle následujícího vzorce: $[100 - (\text{průměrná odpověď na prepulz-pulz} / \text{průměrná odpověď na úlekový pulz}) \times 100]$. Průměrná akustická úleková reakce (ASR) v arbitrárních jednotkách byla vypočítána jako plocha pod křivkou (AVG) z odpovědí na úlekové pulzy (125 dB).

7.4.3. Test podmíněné preference místa

Plastová aparatura pro CPP byla složena ze tří oddílů: dvě stejně velké podmiňovací arény (45 x 50 cm) a neutrální zóna (35 x 20 cm). Každá z podmiňovacích arén měla odlišný

vzor stěn (pruhy x čtverce) a podlah (pruhované x kulaté otvory). Neutrální zóna byla průhledná. Arény byly mezi sebou rozděleny gilotinovým typem dvířek ovládaných experimentátorem. Čas potkana strávený v každé z arén byl zaznamenávána automatickým videomonitoračním systémem (EthoVision Color Pro v. 3.1.1, Noldus, Nizozemí).

Kompletní experiment CPP trval 11 dní a skládal se z následujících fází: (i) habituace na testovací aparaturu (den 1); (ii) předpodmiňovací test (den 2); (iii) podmiňování (den 3-10); (iv) závěrečný test (den 11). Během habituace a předpodmiňovacího testu byla potkanům bezprostředně před jejich umístěním do neutrální zóny aplikována neaktivní látka. Dvířka byla otevřena a potkani mohli explorovat celou aparaturu po dobu 15 min. Potkani, kteří v předpodmiňovacím testu trávili přes 80 % času v jedné z podmiňovacích arén, byli z experimentu vyřazeni kvůli primární preferenci (Berry et al., 2012). Potkani pak byli pseudonáhodně rozřazeni do skupin a k podmiňovacím arénám. Během podmiňování, které probíhá 8 dní, byli potkani bezprostředně po aplikaci látky umístěni do jedné z podmiňovacích arén na dobu 30 min, gilotinová dvířka byla zavřena. Střídá se podmiňování aktivní látky s jednou arénou a neaktivní látky s druhou arénou. Po skončení podmiňovací fáze následuje závěrečný test. Všem potkanům byla aplikována neaktivní látka a byli testováni stejně jako v předpodmiňovacím testu. Preferenční skóre se vypočítalo jako čas strávený v jednotlivých podmiňovacích arénách/ celkový čas v obou arénách dohromady.

7.5. Tělesná teplota

Vliv na tělesnou teplotu byl posuzován měřením rektální teploty digitálním rychloteploměrem. Po aplikaci látky byla zvířata umístěna do klece po pěti (tzv. agregovaná kondice) nebo samostatně po jednom (izolovaná kondice). Každé zvíře podstoupilo 13 měření (jedno měření trvá 10 s), během kterého byl na krátký časový úsek imobilizován v plexisklovém

válci. Časový diagram měření byl následující: (i) 7:00– 9:00 h hodinový interval měření teploty před aplikací látky, celkem 3 měření (ii) 9:00 h aplikace látky (iii) 9:30–11:00 h půlhodinový interval měření teploty po aplikaci látky, celkem 4 měření (iv) 12:00–17:00 h hodinový interval měření teploty po aplikaci látky, celkem 6 měření.

7.6. Mikrodialýza

Potkani byli anestezizováni inhalačním anestetikem (Isofluran) a umístěni do stereotaktického zařízení (Stoelting co., Illinois, USA). Po očištění lebky od tkání a zaměření koordinát byl vyvrtán vstup pro vodič (MAB 4.15.IC; AgnTho's AB, Sweden). Vodič byl implantován 2 mm nad strukturu *nucleus accumbens* shell (A: +2.0 mm, L: +1.2 mm, V: -6.2 mm od bregmy) (Paxinos & Watson, 2003). Po ukončení operace byli potkani umístěni do klecí po jednom a ponecháni 7 dní k zotavení z operace. V den sběru mikrodialyzátů byla potkanům přes vodič zavedena kanyla (MAB 4.15.2. Cu; AgnTho's AB, Švédsko; kuprofanová 2 mm membrána, MWCO¹ 6 kD) do NAcc shell. Proba byla napojena na pumpu (Univentor 864; Univentor Limited, Malta) a promývána Ringrovým roztokem o průtoku 2 µl/min. Sběr mikrodialyzátů byl zahájen 60 min po napojení proby a to v intervalech 20 min. Mikrodialyzáty byly sbírány do plastových vialek po dobu 4 h. NSD byla aplikována 60 min po zahájení sběru mikrodialyzátů (po 3 odběrech bazálních hladin). Po ukončení experimentu byli potkani usmrceni dekapitací hlavy. Pro histologickou verifikaci polohy proby byly vyjmuty mozky a uchovány v 10 % formalinu.

7.7. Farmakokinetika

Pro stanovení farmakokinetiky byla vybrána jedna, zpravidla střední dávka vybrané NSD. Časové úseky pro stanovení koncentrací byly stanoveny na základě odhadu dle délky trvání

¹ MWCO – dělicí rozsah membrán udává molekulovou hmotnost, která již neprojde membránou.

účinků 30, 60, 120, 240 a 480 min po aplikaci látky. Pro každý časový bod bylo použito sérum/tkáň z 8 zvířat. Zvířata byla usmrcena dekapitací, jejich sérum, mozek, plíce a játra byly ihned odebrány a zamraženy na -20°C.

Analýza vzorků pro zde zahrnutá měření byla provedena v rámci institucionální spolupráce s pracovištěm Ústavu soudního lékařství a toxikologie (ÚSLTOX) na Univerzitě Karlově v Praze, 1. lékařské fakultě. Použité metody jsou rozepsané v příložených publikacích *in extenso*.

7.8. Statistická analýza dat

Pro statistické hodnocení dat z testu OF a PPI byla použita dvoufaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Jako nezávislé proměnné byly zvoleny dávka studované substance, resp. vehikulum (meziskupinový faktor) a časový rozestup experimentu od aplikace (vnitřní faktor).

Při hodnocení změny délky trajektorie v 5 min blocích byla použita třífaktorová ANOVA pro opakovaná měření s nezávislými meziskupinovými proměnnými: dávka/vehikulum (meziskupinový faktor) a časový rozestup (vnitřní faktor 1); 5 min interval jako opakovaná proměnná (vnitřní faktor 2).

Třífaktorová ANOVA pro opakovaná měření byla též použita k vyhodnocení změn tělesné teploty. Meziskupinové nezávislé proměnné: dávka/vehikulum a podmínky ustájení; čas měření jako opakovaná proměnná.

Dvoufaktorová ANOVA pro opakované měření byla zvolena k hodnocení dat z CPP. Nezávislou proměnnou byla dávka/vehikulum, opakovanou proměnnou byl test (předpokládávací, závěrečný test).

ANOVA pro opakované měření byla zvolena k hodnocení mikrodialyzačních dat. Nezávislou proměnnou byl čas, opakovanou proměnnou byla koncentrace dopamínu.

Jako statisticky významné byly považovány rozdíly nad 5 % hladiny významnosti ($p < 0,05$). Následná porovnání byla provedena nezávislými t-testy nebo post hoc testy.

8. VÝSLEDKY

8.1. Test otevřeného pole

Mefedron: V testu otevřeného pole byl prokázán hlavní efekt dávky [F (3, 72) = 24.75, $p < 0.001$], časového rozestupu experimentu od administrace [F (1, 72) = 72.042, $p < 0.001$] i 5 min intervalů [F (5, 360) = 101.67, $p < 0.001$]. Rovněž interakce dávka X čas X intervaly byla signifikantní [minimum F (15, 360) = 2.979, $p < 0.001$]. Následné post hoc testy ukázaly signifikantní vliv všech dávek mefedronu (2.5 mg/kg, 5 mg/kg a 20 mg/kg) v čase testování 5 min po aplikaci, kdy v porovnání s kontrolní skupinou byli potkani hyperaktivní ve všech 5 min intervalech ($p < 0.001$). V čase 40 min po aplikaci nebyl v lokomoční aktivitě mezi skupinami signifikantní rozdíl ($p > 0.05$).

Čas strávený v centru a tigmotaxe byly signifikantně ovlivněny dávkou i časem, stejně tak jejich interakce; [minimum F (3, 72) = 5.385, $p < 0.01$] pro T_{center} a [minimum F (3, 72) = 6.792, $p < 0.001$] pro tigmotaxi. Post hoc testy prokázaly, že skupiny 2.5 mg/kg a 5 mg/kg, čas testování 5 min po podání mefedronu, strávily v porovnání s kontrolou signifikantně více času v centru arény ($p < 0.001$). Naopak nejméně času na periférii trávili potkani po dávce 20 mg/kg, čas testování 5 min po podání mefedronu ($p < 0.001$).

Metylon: V testu otevřeného pole byl prokázán hlavní efekt dávky [F (3, 71) = 22.43, $p < 0.001$], časového rozestupu experimentu od administrace [F (1, 71) = 50.68, $p < 0.001$] i 5 min intervalů [F (3, 211) = 188.43, $p < 0.001$]. Jako statisticky významná vyšla interakce dávka X čas [F (3, 71) = 8.37, $p < 0.001$] a čas X intervaly [F (3, 211) = 6.81, $p < 0.001$]. Vzhledem k tomu, že interakce dávka X interval nevyšla signifikantně, použili jsme následně nezávislé t-testy pro celkovou lokomoci. T-testy odhalily signifikantní vliv všech dávek metylonu (5 mg/kg, 10

mg/kg a 20 mg/kg) a to v obou časech po aplikaci (15 min resp. 60 min), kdy v porovnání s kontrolní skupinou vykazovali delší trajektorii, tedy zvýšenou lokomoci [minimum $t(13) = 5.17, p < 0.001$] resp. [minimum $t(12) = 2.99, p < 0.05$].

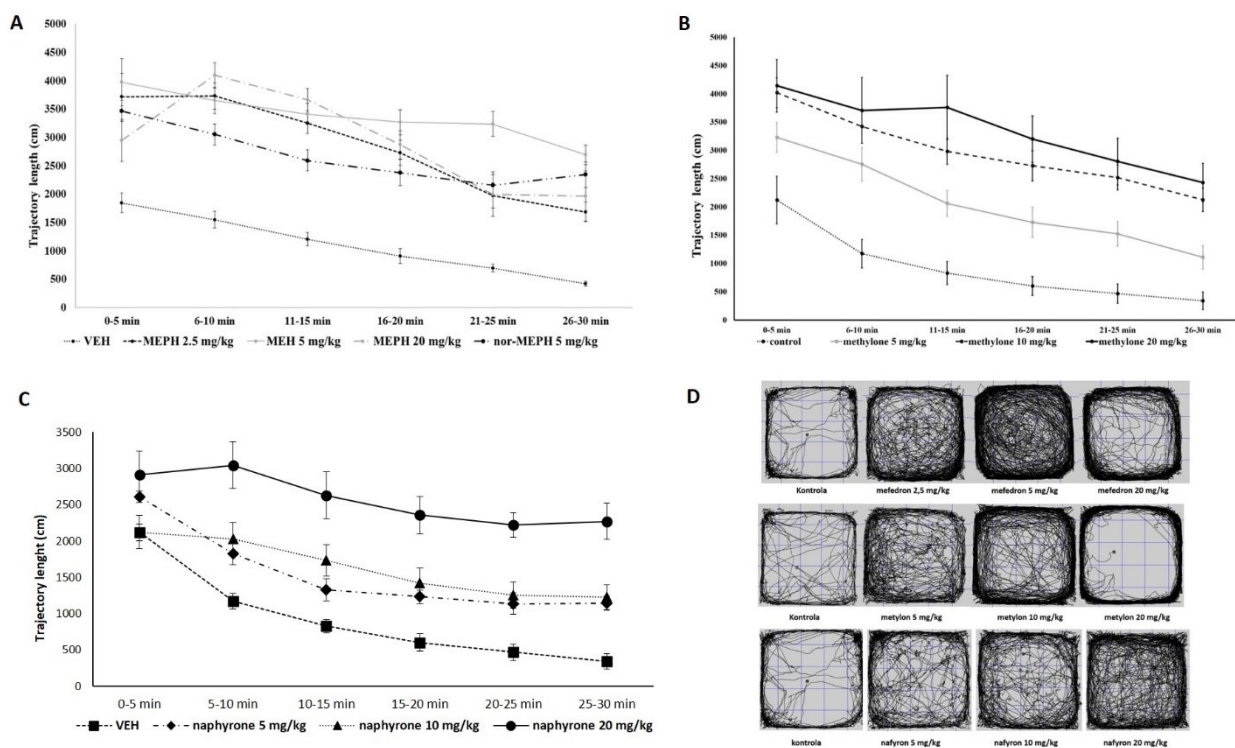
Pro čas strávený v centru vyšel signifikantně vliv dávky [F (3, 71) = 9.82, $p < 0.001$] a interakce dávka X čas [F (3, 71) = 6.37, $p < 0.001$]. Nezávislé t-testy odhalily, že všechny dávky metylonu a v obou časech (kromě dávky 20 mg/kg v čase 15 min a 10 mg/kg v čase 60 min) signifikantně zvýšili čas trávený v centru arény [minimu $t(11) = 3.44, p < 0.05$]. Tigmotaxe byla signifikantně ovlivněna dávkou [F (3, 71) = 7.38, $p < 0.001$] i časem [F (1, 71) = 22.15, $p < 0.001$], stejně tak jejich interakce [F (3, 71) = 14.89, $p < 0.001$].

Nafyron: Jako signifikantní byl prokázán hlavní efekt dávky [F (3, 72) = 23.65, $p < 0.001$], časového rozestupu experimentu od administrace [F (1, 72) = 4.09, $p < 0.05$] a 5 min intervalů [F (3, 236) = 297.7, $p < 0.001$]. Statisticky významná byla interakce dávka X intervaly [F (10, 236) = 6.06, $p < 0.001$] a čas X intervaly [F (3, 236) = 6.71, $p < 0.001$]. Následné nezávislé t-testy prokázaly signifikantně vyšší lokomoci od druhého až po šestý 5min interval u všech dávek nafyronu (5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg) v časovém odstupu od aplikace 15 min, v porovnání s kontrolou [minimum $t(11) = 2.24, p < 0.05$]. V čase 60 min od aplikace byla lokomoce u všech dávek nafyronu zvýšena ve všech 5 min intervalech, v porovnání s kontrolní skupinou [minimum $t(18) = 2.21, p < 0.05$].

Čas strávený v centru arény byl signifikantně ovlivněn pouze dávkou [F (3, 72) = 13.22, $p < 0.001$]. Nezávislé t-testy ukázaly, že všechny dávky nafyronu (nehledě na čas od aplikace) zvýšily oproti kontrolní skupině čas strávený v centru [minimum $t(25) = 5.03, p < 0.001$]. Tigmotaxe byla statisticky významně ovlivněna dávkou [F (3, 72) = 7.86, $p < 0.001$] i časem od aplikace [F (1, 72) = 4.63, $p < 0.05$], avšak vliv interakce nebyl prokázán. Nezávislé t-testy

prokázaly, že všechny dávky nafyronu snížily výskyt potkanů v periferních zónách [minimum t (38) = 2.03, $p < 0.05$].

Srovnání lokomoce po administraci mefedronu, metylonu a nafyronu v Obr. 2. Podrobnější výsledky a grafy v příložených publikacích autora.



Obr. 2: Délka trajektorie (cm) v 5 min blocích po dobu 30 min v čase 5 min po s.c. administraci mefedronu (MEPH) 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 20 mg/kg a nor-mefedronu (nor-MEPH) 5 mg/kg (A), převzato z Sichova et al. (2018), 15 min po administraci metylonu 5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg (B), převzato ze Štefková et al. (2018), 15 min po administraci nafyronu 5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg (C), převzato z Pinterova-Leca et al. (2020). (D) znázorňuje typické trajektorie 5 min pod administraci mefedronu a 15 min po administraci metylonu, resp. nafyronu. Zobrazeny jsou průměry a chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru (SEM).

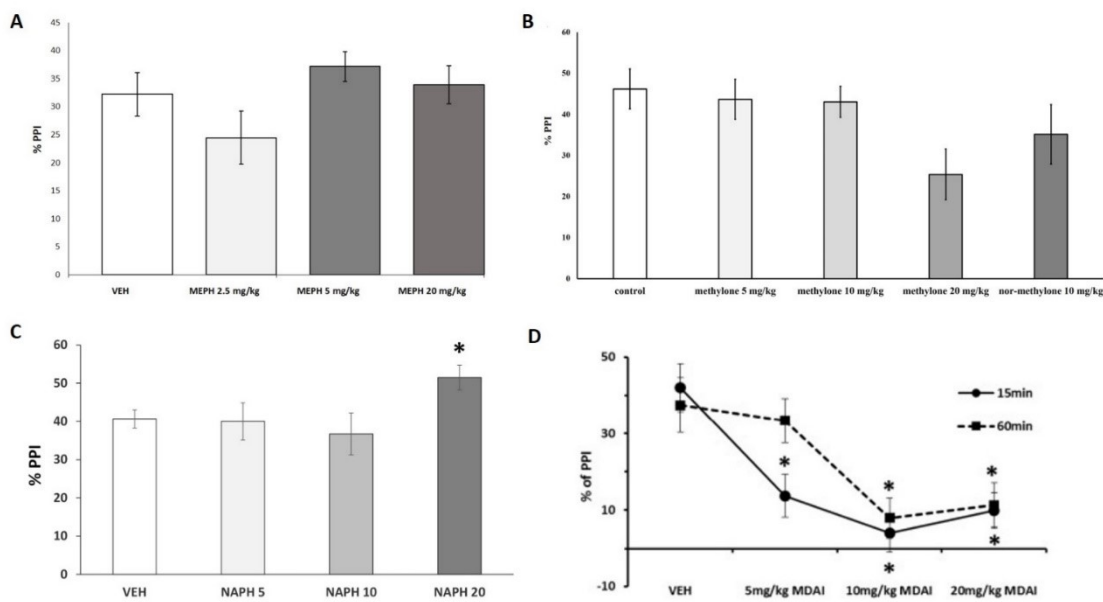
8.2. Test prepulzní inhibice

Mefedron: ASR nebyla ovlivněna dávkou ani časovým rozestupem experimentu od administrace nebo jejich interakcí [maximum $F(1, 72) = 3.322, p > 0.05$]. PPI nebyla ovlivněna dávkou ani časem, avšak jejich interakce byla signifikantní [$F(3, 71) = 3.483, p < 0.05$]. Post hoc testy ovšem odhalily v porovnání s kontrolou pouze marginální efekt dávky 5 mg/kg a 20 mg/kg v čase testování 40 min po aplikaci ($p = 0.062$ resp. $p = 0.081$) na disrupci PPI.

Metylon: Akustická úleková reakce a prepulzní inhibice byly signifikantně ovlivněny dávkou metylonu [$F(3, 72) = 2.83, p < 0.05$] resp. [$F(3, 72) = 2.88, p < 0.05$], ale bez významné interakce. Následné t-testy neprokázaly žádný signifikantní výsledek, pouze trend v narušení PPI pro dávku 20 mg/kg v čase 15 min, v porovnání s kontrolní skupinou $t(18) = 1.91, p = 0.1$.

Nafyron: ASR ani PPI nebyly statisticky významně ovlivněny dávkou či časem testování od aplikace. Pouze u PPI byla prokázána signifikantní interakce dávka X čas [$F(3, 70) = 3.10, p < 0.05$]. Nezávislé t-testy odhalily signifikantní navýšení PPI po nafyronu 20 mg/kg v čase od aplikace 15 min [minimum $t(18) = 1.80, p < 0.05$].

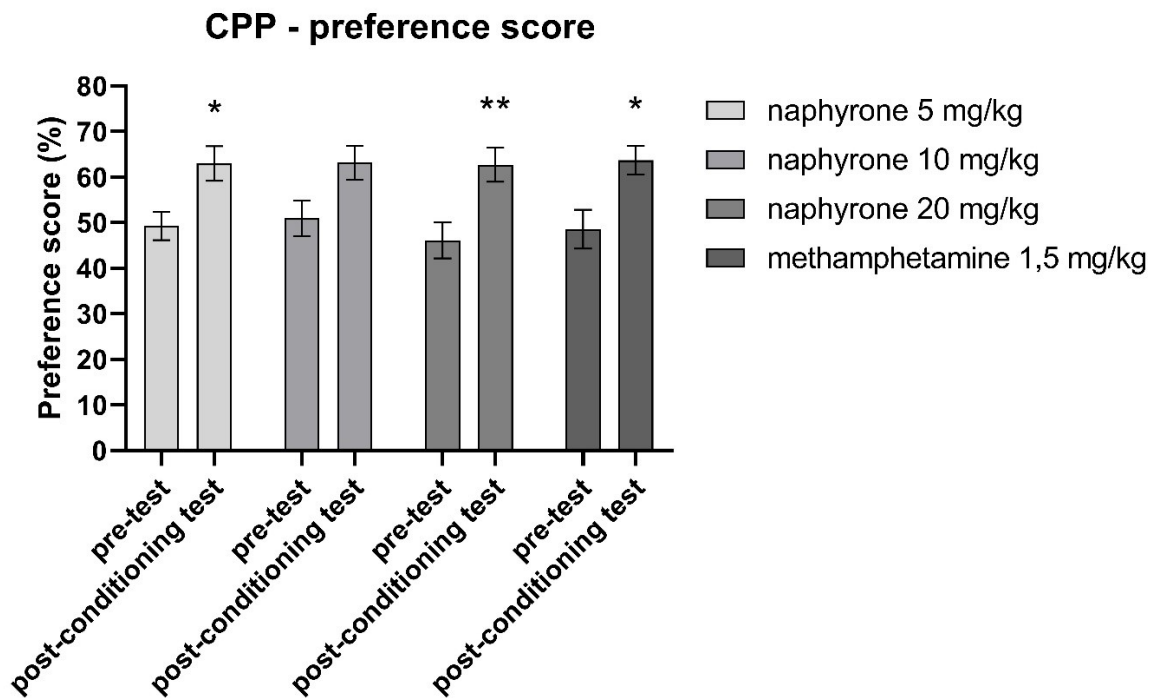
Srovnání PPI po administraci mefedronu, metylonu, nafyronu a MDAI v Obr. 3. Podrobnější výsledky a grafy v příložených publikacích autora.



Obr. 3: Prepulzní inhibice (%) 5 min po s.c. administraci mefedronu 2.5 mg/kg, 5mg/ kg a 20 mg/kg (A), 15 min po s.c. administraci metylonu 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg a nor-metylonu 10 mg/kg (B), převzato z Štefková et al. (2017), 15 min po s.c. administraci nafyronu 5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg (C), převzato z Pinterova-Leca et al. (2020). Pro srovnání uvádíme graf prepulzní inhibice 15 a 60 min po s.c. administraci MDAI 5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg (D), který působí dominantně na serotoninergním systém na rozdíl od předchozích látek, které jsou více dopaminergní (více viz diskuze). Převzato z Palenicek et al. (2016). Zobrazeny jsou průměry a chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru (SEM). * $p < 0.05$.

8.3. Podmíněná preference místa

Nafyron: Signifikantní vliv na čas strávený v aréně spojené s drogou měla dávka [F (1, 46) = 31.78), $p < 0.0001$]. Následný Bonferoniho post-hoc test odhalil signifikantní navýšení preferenčního skóre u dávky nafyron 5 mg/kg ($p = 0.0352$), 20 mg/kg ($p = 0.007$) a metamfetamin 1.5 mg/kg ($p = 0.0305$) v porovnání závěrečný test vs. předpodmiňovací test. Nafyron 10 mg/kg byl na hranici statistické významnosti ($p = 0.0752$). Grafické znázornění viz Obr. 4.



Obr. 4: Změna v preferenčním skóre po podání nafyronu 5 mg/kg, 10mg/kg a 20 mg/kg vs. amfetaminu 1.5 mg/kg. Zobrazeny jsou průměry a chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru (SEM). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

8.4. Tělesná teplota

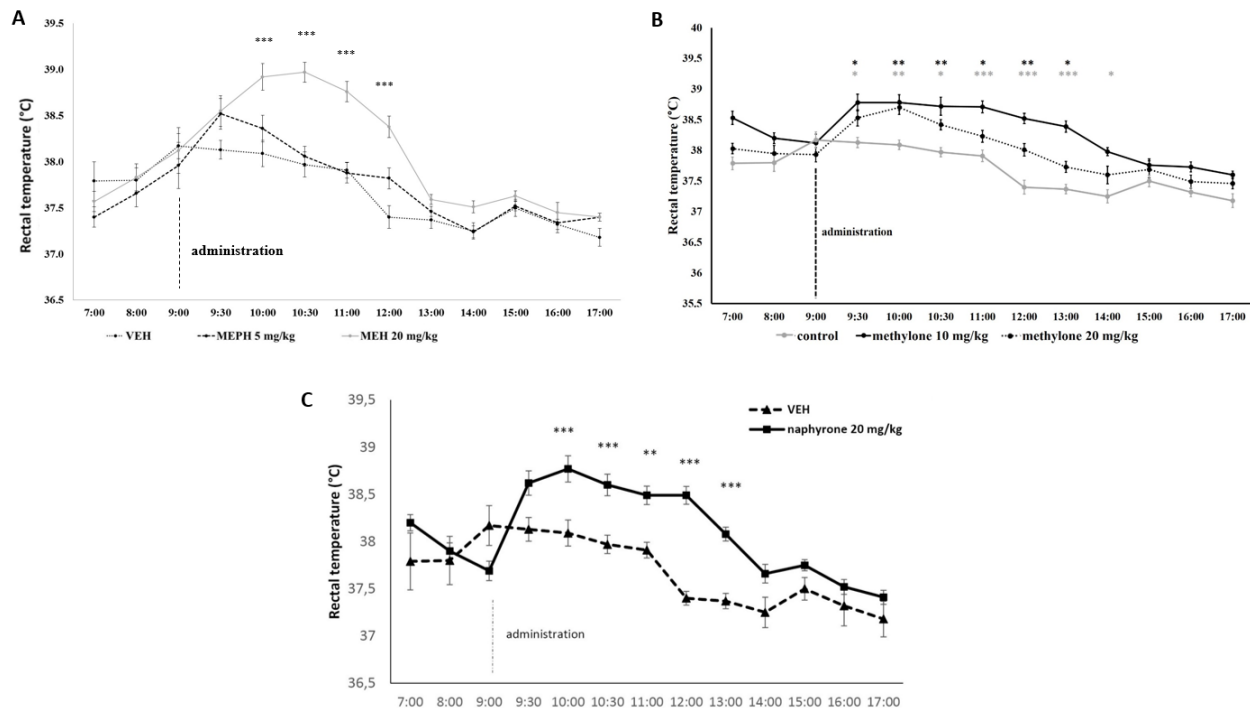
Mefedron: Tělesná teplota byla signifikantně ovlivněna dávkou [$F(2, 54) = 9.409, p < 0.001$] a časem [$F(12, 648) = 124.560, p < 0.001$], nikoliv však podmínkami ustájení (samostatně resp. po pěti) [$F(1, 54) = 0.127, p > 0.05$]. Jako signifikantní vyšly interakce dávka X čas X podmínky ustájení [minimum $F(12, 648) = 2.406, p < 0.01$]. Post hoc testy neodhalily signifikantní rozdíl mezi dávkou 5 mg/kg mefedronu a kontrolou, pouze v časovém úseku 30 min od administrace mefedronu ve skupině hromadně ustájených ($p < 0.05$). Pro dávku 20 mg/kg bylo signifikantní navýšení teploty detekováno 1 h po administraci mefedronu (samostatně ustájení potkani) a trvalo další 2 h (minimum $p < 0.001$). Pro stejnou dávku, ale u hromadně

ustájených potkanů bylo signifikantní navýšení teploty detekováno již 30 min po administraci mefedronu a trvalo další 2 h (minimum $p < 0.001$).

Metylon: Signifikantní vliv na tělesnou teplotu měla dávka [$F(2, 54) = 5.29, p < 0.05$], podmínky ustájení [$F(1, 54) = 4.41, p < 0.05$] a čas [$F(5, 289) = 161.58, p < 0.001$]. Jako signifikantní vyšla interakce dávka X čas X podmínky ustájení [$F(11, 289) = 4.3, p < 0.001$]. Nezávislé t-testy prokázali signifikantně zvýšenou tělesnou teplotu u samostatně ustájených potkanů 30 min po administraci metylonu 10 mg/kg a 20 mg/kg trvajících ještě 4 h resp. 5h po administraci [minimum $t(18) = 2.15, p < 0.05$] resp. [minimum $t(18) = 2.07, p = 0.05$]. Potkani ustájení po pěti vykazovali signifikantně vyšší tělesnou teplotu 30 min po administraci metylonu trvajících 1.5 h resp. 2 h po administraci 10 mg/kg resp. 20 mg/kg [minimum $t(18) = 2.6, p < 0.05$] resp. [minimum $t(18) = 2.46, p < 0.05$].

Nafyron: Na tělesnou teplotu měla signifikantní vliv dávka [$F(1, 36) = 49.50, p < 0.001$] a čas [$F(6.34, 432) = 58.33, p < 0.001$], nikoliv však podmínky ustájení. Signifikantní byla též interakce dávka X čas [$F(6.34, 432) = 19.42, p < 0.001$]. Nezávislé t-testy odhalily statisticky významné zvýšení teploty po dávce 20 mg/kg od času administrace trvajících následující 4 h [minimum $t(38) = 3.42, p = 0.001$].

Srovnání tělesné teploty mefedronu, metylonu a nafyronu v Obr. 5. Podrobnější výsledky a grafy v příložených publikacích autora.



Obr. 5: Vývoj rektální tělesné teploty (°C) u samostatně ustájených potkanů po s.c. administraci mefedronu (MEPH) 5 mg/kg a 20 mg/kg (A) převzato z Sichova et al. (2017), metylonu 10 mg/kg a 20 mg/kg (B) převzato z Štefková et al. (2017) a nafyronu 20 mg/kg (C) převzato z Pinterova-Leca et al. (2020). Zobrazeny jsou průměry a chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru (SEM). *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

8.5. Farmakokinetika

Mefedron: Maximální průměrná koncentrace mefedronu v séru (826.2 ng/ml) byla dosažena v 30 min po administraci. Taktéž maximální průměrná koncentrace mefedronu v mozku (767 ng/g) byla ve 30 min po administraci. Robustní akumulace mefedronu byla v plicích (1044.5 ng/g) 30 min po administraci.

Metylon: Maximální průměrná koncentrace metylonu v séru (2316.37 ng/ml) byla dosažena v 30 min po administraci. Taktéž maximální průměrná koncentrace metylonu v mozku (10523.4 ng/g) byla ve 30 min po administraci.

Nafyron: Mediánová hodnota koncentrace nafyronu v séru (269 ng/ml) byla dosažena v 30 min po administraci. Taktéž mediánová hodnota koncentrace nafyronu v mozku (1737 ng/g) byla ve 30 min po administraci. Robustní akumulace nafyronu byla v plicích (3025 ng/g) 30 min po administraci.

Podrobnější výsledky a grafy v příložených publikacích autora.

8.6. Akutní toxicita

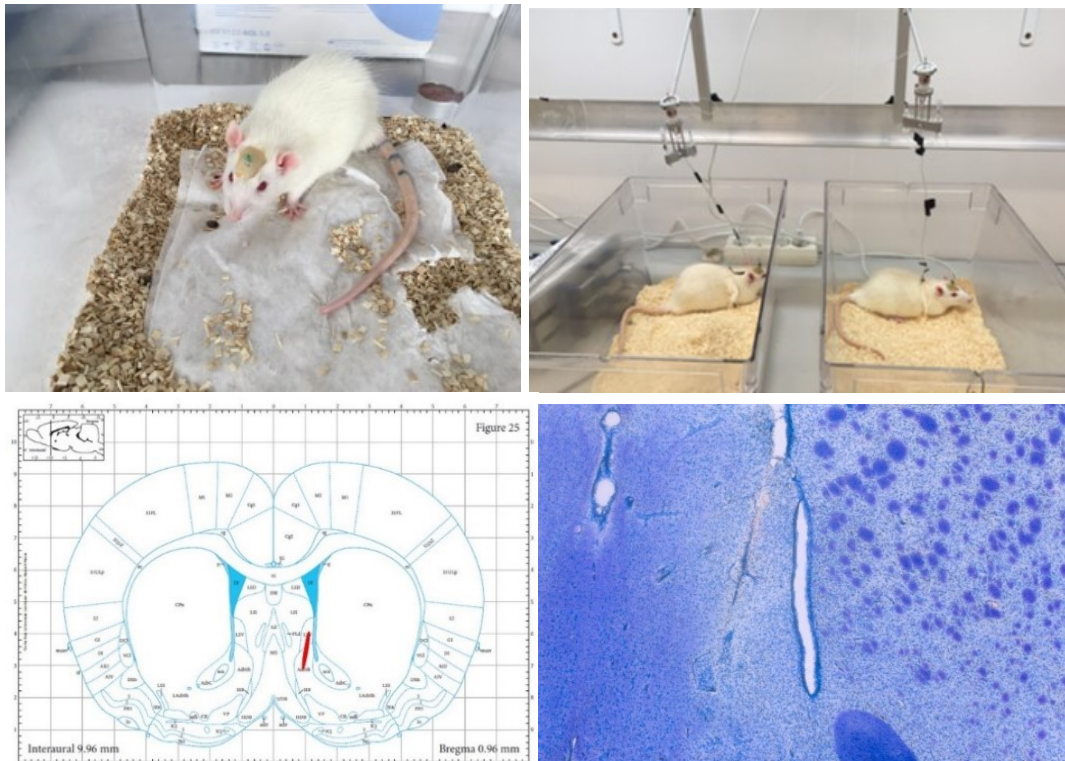
Metylon: potkanům byl s.c. aplikován metylon 40 mg/kg v čase 15 min před plánovaným testem PPI. Potkani 2 h po aplikaci pouze leželi a nevykazovali žádné známky chování. Do 24 h šest potkanů z deseti uhynulo. Stejný průběh byl sledován i u potkanů aplikovaných stejnou dávkou pro OF test. Další sady experimentů byly v návaznosti na popsané skutečnosti zrušeny.

8.7. Mikrodialýza

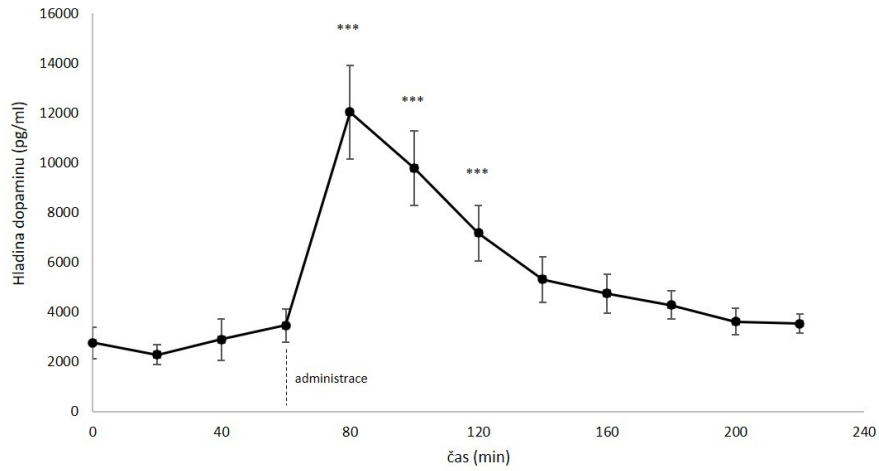
Z důvodu náročného vývoje analytické metody na přístroji QTRAP 6500 v kombinaci s mikroprůtokovou kapalinovou chromatografií nejsou vzorky z mikrodialyzačních experimentů s NSD dosud analyzovány. Příčinou byl na jedné straně jednak vývoj metody, která dosud nebyla realizována na tomto typu přístroje, jednak i z důvodu extrémní časové náročnosti pro průtok vzorku přístrojem, kdy se jeden vzorek analyzuje 1.5 hodiny. Aktuálně tedy sice nejsou výsledky s NSD k dispozici, nicméně, níže uvádíme pilotní data – vliv metamfetaminu 1 mg/kg na hladiny dopaminu v NAcc, na kterých byla metoda validována. Tato pilotní data budou použita pro srovnání s účinky NSD. Samotné mikrodialyzační experimenty s NSD byly provedeny, viz Obr. 6.

Metamfetamin: na hladinu dopaminu měl signifikantní vliv čas (administrace metamfetaminu) [F (11 , 77) = 28.614, p < 0.001]. Následné post hoc testy odhalily signifikantní

nárůst dopaminu v čase 80, 100 a 120 min (po podání metamfetaminu) v porovnání s výchozími hladinami dopaminu v čase 0, 20, 40 a 60 min ($p < 0.001$), viz Obr. 7.



Obr. 6: Horní levé foto zachycuje potkana po stereotaktické implantaci vodiče. Horní pravé foto ukazuje průběh mikrodialyzačního experimentu, kdy jsou potkani v domácí kleci napojeni na mikrodialyzační pumpu a probíhá sběr mikrodialyzátů. Dolní levý obrázek ukazuje ve stereotaktickém atlase umístění kanyly po histologickém ověření pozice (dolní pravý obrázek).



Obr. 7: Změny v hladinách dopaminu po administraci metamfetaminu 1 mg/kg v čase 60 min. Zobrazeny jsou průměry a chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru (SEM). *** $p < 0.001$.

9. DISKUZE

Všechny námi zkoumané syntetické katinony vykazovaly rychlou absorpci (nejvyšší koncentrace byly dosaženy 30 min po s.c. administraci) a průchod hematoencefalickou bariérou. V porovnání s jinými pracemi věnovanými farmakokinetice NSD z řad syntetických katinonů, byly nejvyšší koncentrace měřeny do 15 min po aplikaci (Aarde et al., 2013; Elmore et al., 2017). S přihlédnutím k faktu, že nejmarkantnější zvýšení lokomoce v OF testu bylo zaznamenáno 5-10 min po aplikaci mefedronu, je pravděpodobné, že nejvyšší bod koncentrace studovaných NSD byla v intervalu do 30 min, tedy ještě před prvním měřením v našich experimentech. Koncentrace syntetických katinonů byly v mozku u většiny násobně vyšší než v séru – mozek/sérum ratio bylo pro mefedron 1.19, pro metylon 4.54 a pro nafyron 6.5. Jelikož nafyron obsahuje pyrrolidinový kruh, který snižuje jeho polaritu, prochází hematoencefalickou bariérou rychleji, než mefedron či metylon (Coppola & Mondola, 2012). Vzhledem k tomu, že mefedron, metylon i nafyron jsou látky lipofilní, podobně jako jiné námi testované substance MDAI či MDPV (Horsley et al., 2018; Palenicek et al., 2016), docházelo k značné akumulaci v plicích, což může být způsobeno relativně velkým objemem krve protékajícím plicemi a následnému transportu látek do plicní tkáně, kde jsou zachyceny (Upton & Doolette, 1999). Kinetický profil metylonu i mefedronu byl oproti nafyronu poměrně krátkodobý. Mefedron byl v době 4 h po aplikaci již téměř nedetekovatelný jak v séru, tak ve všech ostatních tkáních, podobně metylon. Tato rychlá eliminace z organismu je v souladu s uživatelskými reporty o krátkodobých účincích a častém opakovaném užití během jednoho večera či kombinování s jinými drogami (Karila et al., 2016; Measham et al., 2010). Nafyron se držel ve vysokých koncentracích první 2 h a pak pozvolna klesal. Ve všech tkáních mimo sérum byl detekován ještě

8 h po aplikaci. Tyto poznatky jsou v souladu s reportovaným rychlým nástupem účinku a jejich dlouhodobým trváním jak u lidí, tak u potkanů (Derungs et al., 2011; Meltzer et al., 2006).

Změny v lokomoční aktivitě po aplikaci syntetických katinonů odpovídaly jejich farmakokinetickému profilu. Stimulační efekt byl patrný u všech podaných látek s nejvýraznějším efektem 5 min (mefedron) a 15 min po aplikaci (metylon, nafyron). Typickým jevem pro mnohé stimulanty je obrácená U-křivka lokomoční aktivity, tedy že vyšší dávky mohou vést ke snížení lokomoce (Aarde et al., 2013; McNamara et al., 2006). To jsme mohli pozorovat u mefedronu, kdy nejvyšší dávka 20 mg/kg vedla k nižší celkové lokomoci než dávka 5 mg/kg. Stejný efekt pozorovali i Gatch et al. (2016) ve své studii na myších, kde lokomoční aktivita po dávce mefedronu 30 mg/kg byla nižší než po dávce 10 mg/kg. V případě metylonu a nafyronu naznačují naše výsledky spíše zvyšující se lokomoci spolu s rostoucí dávkou. Možným vysvětlením můžou být námi zvolené nízké dávky, tedy dávky umístěné stále ještě na stoupající části křivky. Tomu by napovídaly zvolené dávky pro metylylon a nafyron ve již výše zmíněné práci Gatch et al. (2016), kdy nejvyšší dávka metylonu byla 20 mg/kg a nafyronu 100 mg/kg. Obě substance v těchto dávkách indukovaly nižší lokomoční aktivitu s porovnáním s jejich nižší dávkou. Jiným možným vysvětlením v případě nafyronu může být jeho hlavní účinek na serotonergním systém. Jak bylo již popsáno u MDMA, v nízkých dávkách je hyperlokomoce indukována primárně přes serotonergním systém a teprve až ve vyšších dávkách se projeví efekt dopaminergního systému (Palenicek et al., 2005). Jako nejefektivnější stimulant se v OF testu ukázal být mefedron, ovšem s relativně krátkodobým účinkem, což je ve shodě s výše popsanou farmakokinetikou. Naopak poměrně slabým stimulantem se ukázal být nafyron. Ačkoliv jeho potence inhibovat DAT je větší než u kokainu (Simmler et al., 2013), jeho efekt nebyl nijak výrazný a v porovnání s jiným pyrrovaleronovým katinonem MDPV (Horsley et al., 2018) je až

překvapující, že hyperlokomoce není tak rozvinutá. Tento rozdíl v účinku může být důvod, proč nafyron nikdy nenabyl velké popularity v porovnání s jinými NSD. Při analýze trajektorie zvířat v aréně po podání nafyronu se prokázala vyšší frekvence výskytu zvířat v centrální zóně v závislosti na dávce. Jelikož zároveň frekvence výskytu v periferních zónách klesla, výskyt v centru arény nebyl navýšen v důsledku hyperlokomoce. Zvýšený výskyt v centru arény je spojován se zvýšenou explorací a sníženou anxietou, stejně jako po aplikaci MDMA (Palenicek et al., 2005). Stereotypní chování typické pro stimulanty nebylo pozorováno. Behaviorální stereotypie byly naopak pozorovány po podání vyšších dávek mefedronu a metylonu, stejně jako po aplikaci jiných NSD z našich předešlých studií – MDPV, MDAI či PMMA (Horsley et al., 2018; Palenicek et al., 2011, 2016). U metylonu a mefedronu byl patrný bifázický efekt odvislý od dávky – nízké dávky zvyšovaly frekvenci pobytu v centru arény (zvýšená explorace a snížená anxieta), vyšší dávky naopak zvyšovaly tigmatixi (zvýšená anxieta či obraz stereotypního běhání podél stěn).

PPI, tedy senzomotorické zpracování informací nebylo narušeno žádnou dávkou mefedronu ani metylonu. Tyto výsledky jsou v souladu s pozorováním Shortall et al. (2013), kde žádný z podaných katinonů nenarušil PPI. Nicméně jak ukázal ve své práci Banjaw et al. (2005), PPI bylo katinony signifikantně narušeno v modelu chronického podání (po čtvrté dávce), nikoliv po akutní aplikaci. Ačkoliv jsme narušení PPI po akutní aplikaci metylonu ani mefedronu nepozorovali, z výše popsaného vyplývá, že jejich efekt na senzomotorické zpracování může být spojené s dlouhodobým užíváním katinonů (Kalix, 1991). Porovnáme-li data z PPI experimentu s jinými fenetylami, katinony či aminoindany studovanými v naší laboratoři, jiným možným vysvětlením může být míra účinku na serotonergní systém. Substance působící převážně přes serotonergní systém jako MDMA, MDAI či PMMA statisticky významně narušovali PPI již

v nízkých dávkách (Bubenikova et al., 2005; Palenicek et al., 2011, 2016), naproti tomu MDPV, kde převažuje účinek na dopaminový systém (DAT/SERT ratio je > 100) (Simmler et al., 2013), narušovalo PPI pouze ve vysokých dávkách (Horsley et al., 2018). Narušení PPI ve vysokých dávkách je pozorováno u klasických stimulantů jako je amfetamin či metamfetamin (Hadamitzky et al., 2011; Palenicek et al., 2013). V případě nafyronu jsme překvapivě u nejvyšší dávky pozorovali zlepšení PPI. Možným vysvětlením může být fakt, že stimulanty v nižších dávkách způsobují kognitivní nabuzení a zlepšení výkonu (Spencer et al., 2015) a námi zvolené dávky nebyly dostatečně vysoké pro narušení PPI.

Jedním z častých nežádoucích účinků po užití syntetických katinonů je zvýšená tělesná teplota, pocení či jiné problémy s termoregulací (Zawilska & Wojcieszak, 2013). Všechny studované substance signifikantně zvýšily tělesnou teplotu potkanů nehladě na podmínky ustájení (samostatně vs. po pěti). Překvapivě, potkani ustájení samostatně vykazovali zvýšenou tělesnou teplotu delší dobu, než potkani ustájení po pěti. Důvodem může být zrychlený metabolismus u potkanů ustájených po pěti jako důsledek vzniku možného mikroklimatu s vyšší teplotou v domácí kleci případně v důsledku vyšší tělesné teploty ($\sim 1^{\circ}\text{C}$) oproti potkanům ustájených samostatně. Jelikož serotonin je hlavním neuromodulátorem zahrnutý do tělesné termoregulace, robustní vliv na změny v tělesné teplotě mají zejména substance působící na serotonergním systém. Příkladem můžeme uvést MDMA, PMMA či MDAI (Bubenikova et al., 2005; Palenicek et al., 2011, 2016). MDAI, které působí potentně na výlev serotoninu i na inhibici jeho zpětného vychytávání (Johnson, Conarty et al., 1991; Johnson, Frescas et al., 1991), zvýšilo v dávce 20 mg/kg tělesnou teplotu potkanů téměř k teplotě 40°C (ustájení o pěti) a v dávce nad 25 mg/kg vykazovali potkani známky serotoninového syndromu (Palenicek et al., 2016). Námi studované syntetické katinony působí převážně na inhibici DAT a ačkoliv indukují i

výlev serotoninu, působí méně potentně než MDMA (Simmler et al., 2013). Přikláníme se proto k názoru, že námi pozorovaná hypertermie byla spíše důsledkem zvýšené behaviorální aktivity způsobené dopaminovou stimulací stejně jako v případě MDPV (Horsley et al., 2018).

V testu CPP vedl nafyron (nízká a vysoká dávka) k signifikantně zvýšenému preferenčnímu skóre pro arénu spojenou s jeho podáním. Stejný výsledek pozorovali i u jiných katinonů jako je mefedron, metylon či MDPV, kde preferenční skóre bylo dokonce větší než pro srovnatelnou dávku amfetaminu (Karlsson et al., 2014; Lisek et al., 2012). Z výše uvedeného vyplývá, že užívání nafyronu i jiných syntetických katinonů může vést k závislosti.

Při behaviorálních pokusech po s.c. administraci metylonu 40 mg/kg jsme nečekaně dostali k letální dávce. Pozorované symptomy byly hyperventilace a záškuby. Stejnou letální dávku na myším modelu popsali ve své práci Piao et al. (2015). Ve studii pracovali s DAT a SERT KO² myšmi, přičemž letalita se týkala pouze SERT KO myši. Tento poznatek nasvědčuje tomu, že letalita metylonu je asociována s dopaminergním systémem.

² Knock-out – vyřazení genu z funkce

10. ZÁVĚR

V této práci jsme se zabývali evaluací NSD z řad syntetických katinonů. Všechny námi studované NSD se rychle absorbovaly a snadno a rychle procházely hematoencefalickou bariérou. Z hlediska stimulačních účinků bychom mohli látky seřadit v následujícím pořadí: mefedron > nafyron > metylon. Ačkoliv všechny námi zkoumané NSD způsobovaly hypertermii, pravděpodobný podklad shledáváme ve zvýšené behaviorální aktivitě spíše než jako projev serotoninové toxicity. Narušení senzomotorického zpracování po akutním podání prakticky nebylo prokázáno, avšak vliv chronického užívání zůstává otázkou. Námi pozorované behaviorální změny odpovídají jako hlavnímu mechanismu účinku působení na dopaminovou neurotransmisi, což je ve shodě s DAT/SERT ratiem evaluovaných NSD v této práci. Ve shodě s tímto tvrzením naše výsledky dále naznačují, že nafyron je drogou s adiktivním potenciálem. S přihlédnutím k výsledkům z jiných studií a můžeme tento předpoklad aplikovat ke skupině syntetických katinonů se stimulačním účinkem. Na základě těchto zjištění tedy můžeme konstatovat, že první dvě námi zvolené hypotézy byly vesměs potvrzeny, tzn. že 1) katinony jakožto látky s převažujícím dopaminergním účinkem měli sice vliv na zvýšení tělesné teploty, ale nebyly tak významné jako po serotonergních látkách PMMA nebo MDAI a 2) že katinony mají potenciál vyvolávat závislost. Naopak nepotvrdila se hypotéza 3) že námi zvolené katinony budou narušovat senzomotorické zpracování informací.

NSD zkoumané v této práci v mnoha ohledech postrádají kompletní portfolio účinků „klasických“ drog jako je MDMA či amfetamin. I když některé NSD byly ve své legální éře velice populární (mefedron), jiné naopak drogový trh a uživatele výrazně neoslovily (nafyron). Tento fakt koresponduje s výsledky animálních studií uvedených v této práci. Profily syntetických katinonů vzniklé na základě studií uvedených v této disertační práci mohou pomoci

mimo jiné i v predikci NSD, které mají potenciál rozšířit se na drogovém trhu a odhadnout rizika spojená s jejich užitím.

11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Aarde, S. M., Angrish, D., Barlow, D. J., Wright M. J., J., Vandewater, S. A., Creehan, K. M., Houseknecht, K. L., Dickerson, T. J., & Taffe, M. A. (2013). Mephedrone (4-methylmethcathinone) supports intravenous self-administration in Sprague-Dawley and Wistar rats. *Addict Biol*, *18*(5), 786–799. <https://doi.org/10.1111/adb.12038>
- Aarde, S. M., Huang, P. K., Creehan, K. M., Dickerson, T. J., & Taffe, M. A. (2013). The novel recreational drug 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV) is a potent psychomotor stimulant: self-administration and locomotor activity in rats. *Neuropharmacology*, *71*, 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.003>
- Abou-Gharbia, M., Moyer, J. A., Nielsen, S. T., Webb, M., & Patel, U. (1995). New Antihistamines: Substituted Piperazine and Piperidine Derivatives as Novel H1-Antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, *38*(20), 4026–4032. <https://doi.org/10.1021/jm00020a018>
- Adamowicz, P., Tokarczyk, B., Stanaszek, R., & Slopianka, M. (2013). Fatal mephedrone intoxication--a case report. *J Anal Toxicol*, *37*(1), 37–42. <https://doi.org/10.1093/jat/bks085>
- Armenian, P., Olson, A., Anaya, A., Kurtz, A., Ruegner, R., & Gerona, R. R. (2017). Fentanyl and a Novel Synthetic Opioid U-47700 Masquerading as Street “Norco” in Central California: A Case Report. *Annals of Emergency Medicine*, *69*(1), 87–90. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2016.06.014>
- Assi, S., Gulyamova, N., Kneller, P., & Osselton, D. (2017). The effects and toxicity of cathinones from the users’ perspectives: A qualitative study. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *32*(3), e2610. <https://doi.org/10.1002/hup.2610>

- Balint, E. E., Falkay, G., & Balint, G. A. (2009). Khat - A controversial plant. *Wiener Klinische Wochenschrift*, *121*(19–20), 604–614. <https://doi.org/10.1007/s00508-009-1259-7>
- Banjaw, M. Y., Fendt, M., & Schmidt, W. J. (2005). Clozapine attenuates the locomotor sensitisation and the prepulse inhibition deficit induced by a repeated oral administration of *Catha edulis* extract and cathinone in rats. *Behavioural Brain Research*, *160*(2), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.01.002>
- Bardo, M. T., & Bevins, R. A. (2000). Conditioned place preference: What does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology*, *153*(1), 31–43. <https://doi.org/10.1007/s002130000569>
- Baumann, M. H., Ayestas, M. A., Partilla, J. S., Sink, J. R., Shulgin, A. T., Daley, P. F., Brandt, S. D., Rothman, R. B., Ruoho, A. E., & Cozzi, N. V. (2012). The designer methcathinone analogs, mephedrone and methylone, are substrates for monoamine transporters in brain tissue. *Neuropsychopharmacology*, *37*(5), 1192–1203. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.304>
- Berry, J. N., Neugebauer, N. M., & Bardo, M. T. (2012). Reinstatement of methamphetamine conditioned place preference in nicotine-sensitized rats. *Behav Brain Res*, *235*(2), 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.07.043>
- Bossong, M. G., Van Dijk, J. P., & Niesink, R. J. M. (2005). Methylone and mCPP, two new drugs of abuse? *Addiction Biology*, *10*(4), 321–323. <https://doi.org/10.1080/13556210500350794>
- Brandt, S. D., Sumnall, H. R., Measham, F., & Cole, J. (2010). Analyses of second-generation “legal highs” in the UK: Initial findings. *Drug Testing and Analysis*, *2*(7–8), 377–382. <https://doi.org/10.1002/dta.155>

- Brito, A. F., Moreira, L. K. S., Menegatti, R., & Costa, E. A. (2019). Piperazine derivatives with central pharmacological activity used as therapeutic tools. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, *33*(1), 13–24. <https://doi.org/10.1111/fcp.12408>
- Brunt, T. M., Poortman, A., Niesink, R. J. M., & van den Brink, W. (2011). Instability of the ecstasy market and a new kid on the block: mephedrone. *Journal of Psychopharmacology*, *25*(11), 1543–1547. <https://doi.org/10.1177/02698811110378370>
- Bubeníková, V., Horáček, J., & Šťastný, F. (2002). Prepulzní inhibice úlekové reakce jako ukazatel deficitu zpracování informací. *Psychiatrie*, *01*.
- Bubenikova, V., Votava, M., Horacek, J., & Palenicek, T. (2005). Relation of sex and estrous phase to deficits in prepulse inhibition of the startle response induced by ecstasy (MDMA). *Behavioural Pharmacology*, *16*(2), 127–130. <https://doi.org/Doi 10.1097/00008877-200503000-00009>
- Burden, D. A., & Philips, S. R. (1980). Kinetic Measurements of the Turnover Rates of Phenylethylamine and Tryptamine In Vivo in the Rat Brain. *Journal of Neurochemistry*, *34*(6), 1725–1732. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1980.tb11267.x>
- Butler, R. W., Braff, D. L., Rausch, J. L., Jenkins, M. A., Sprock, J., & Geyer, M. A. (1990). Physiological evidence of exaggerated startle response in a subgroup of vietnam veterans with combat-related PTSD. *American Journal of Psychiatry*, *147*(10), 1308–1312. <https://doi.org/10.1176/ajp.147.10.1308>
- Carhart-Harris, R. L., King, L. A., & Nutt, D. J. (2011). A web-based survey on mephedrone. *Drug Alcohol Depend*, *118*(1), 19–22. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2011.02.011>

- Castaneto, M. S., Gorelick, D. A., Desrosiers, N. A., Hartman, R. L., Pirard, S., & Huestis, M. A. (2014). Synthetic cannabinoids: Epidemiology, pharmacodynamics, and clinical implications. *Drug and Alcohol Dependence*, *144*, 12–41. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.08.005>
- Cawrse, B. M., Levine, B., Jufer, R. A., Fowler, D. R., Vorce, S. P., Dickson, A. J., & Holler, J. M. (2012). Distribution of methylenedioxymethamphetamine in four postmortem cases. *Journal of Analytical Toxicology*, *36*(6), 434–439. <https://doi.org/10.1093/jat/bks046>
- Coppola, M., & Mondola, R. (2012). Synthetic cathinones: Chemistry, pharmacology and toxicology of a new class of designer drugs of abuse marketed as “bath salts” or “plant food.” *Toxicology Letters*, *211*(2), 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.03.009>
- Corazza, O., Schifano, F., Simonato, P., Fergus, S., Assi, S., Stair, J., Corkery, J., Trincas, G., Deluca, P., Davey, Z., Blaszkowski, U., Demetrovics, Z., Moskalewicz, J., Enea, A., Melchiorre, G., Mervo, B., Furia, L., Farre, M., Flesland, L., ... Scherbaum, N. (2012). Phenomenon of new drugs on the Internet: the case of ketamine derivative methoxetamine. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *27*(2), 145–149. <https://doi.org/10.1002/hup.1242>
- Cozzi, N. V., Sievert, M. K., Shulgin, A. T., Jacob, P., & Ruoho, A. E. (1999). Inhibition of plasma membrane monoamine transporters by β -ketoamphetamines. *European Journal of Pharmacology*, *381*(1), 63–69. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00538-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00538-5)
- Cunningham, C. L., Gremel, C. M., & Groblewski, P. A. (2006). Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice. *Nature Protocols*, *1*(4), 1662–1670. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.279>

- Danda, H., Leca, N., Štefková, K., Syrová, K., & Páleníček, T. (2020). Nové psychoaktivní substance. *Zaostřeno*, 6(1), 1–20.
- Dargan, P. I., Albert, S., & Wood, D. M. (2010). Mephedrone use and associated adverse effects in school and college/university students before the UK legislation change. *Qjm-an International Journal of Medicine*, 103(11), 875–879. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcq134>
- Derungs, A., Schietzel, S., Meyer, M. R., Maurer, H. H., Krahenbuhl, S., & Liechti, M. E. (2011). Sympathomimetic toxicity in a case of analytically confirmed recreational use of naphyrone (naphthylpyrovalerone). *Clin Toxicol (Phila)*, 49(7), 691–693. <https://doi.org/10.3109/15563650.2011.592838>
- Dickson, A. J., Vorce, S. P., Levine, B., & Past, M. R. (2010). Multiple-drug toxicity caused by the coadministration of 4-methylmethcathinone (mephedrone) and heroin. *J Anal Toxicol*, 34(3), 162–168. <https://doi.org/10.1093/jat/34.3.162>
- Dvir, Y., & Smallwood, P. (2008). Serotonin syndrome: a complex but easily avoidable condition. *General Hospital Psychiatry*, 30(3), 284–287. <https://doi.org/10.1016/j.genhosppsy.2007.09.007>
- EDND. (2017). *European Database on New Drugs*. [Online]. Accessed 19.7.2020. <https://ednd.emcdda.europa.eu>
- Elliott, S., & Evans, J. (2014). A 3-year review of new psychoactive substances in casework. *Forensic Science International*, 243, 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.04.017>
- Elmore, J. S., Dillon-Carter, O., Partilla, J. S., Ellefsen, K. N., Concheiro, M., Suzuki, M., Rice, K. C., Huestis, M. A., & Baumann, M. H. (2017). Pharmacokinetic Profiles and

- Pharmacodynamic Effects for Methyloone and Its Metabolites in Rats. *Neuropsychopharmacology*, 42(3), 649–660. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.213>
- ElSohly, M. A., Gul, W., Wanas, A. S., & Radwan, M. M. (2014). Synthetic cannabinoids: Analysis and metabolites. *Life Sciences*, 97(1), 78–90. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.12.212>
- EMCDDA. (2012). *Synthetic cathinones drug profile*. [Online]. Accessed 15.8.2020. https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/synthetic-cathinones_en
- EMCDDA. (2017). *European Drug Report 2017: Trends and Developments*. Publications Office of the European Union.
- Ener, R. A., Meglathery, S. B., Van Decker, W. A., & Gallagher, R. M. (2003). Serotonin syndrome and other serotonergic disorders. *Pain Medicine*, 4(1), 63–74. <https://doi.org/10.1046/j.1526-4637.2003.03005.x>
- Gatch, M. B., Dolan, S. B., & Forster, M. J. (2016). Locomotor, discriminative stimulus, and place conditioning effects of MDAI in rodents. *Behavioural Pharmacology*, 27(6), 497–505. <https://doi.org/10.1097/Fbp.0000000000000237>
- George, A. V., Lu, J. J., Pisano, M. V., Metz, J., & Erickson, T. B. (2010). Carfentanil-an ultra potent opioid. In *American Journal of Emergency Medicine* (Vol. 28, Issue 4, pp. 530–532). Am J Emerg Med. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2010.03.003>
- Gould, T. D., Dao, D. T., & Kovacsics, C. E. (2009). The open field test. In *Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests*. (pp. 1–20). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9_1

- Graham, R., Bowen, N., & Singh, J. (2014). Mephedrone inhalation causes pneumomediastinum. *BMJ Case Rep*, 2014. <https://doi.org/10.1136/bcr-2014-203704>
- Green, A. R., Cross, A. J., & Goodwin, G. M. (1995). Review of the pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or “Ecstasy”). *Psychopharmacology*, 119(3), 247–260. <https://doi.org/10.1007/BF02246288>
- Green, A. R., King, M. V, Shortall, S. E., & Fone, K. C. (2014). The preclinical pharmacology of mephedrone; not just MDMA by another name. *Br J Pharmacol*, 171(9), 2251–2268. <https://doi.org/10.1111/bph.12628>
- Griffiths, R. R., Hurwitz, E. S., Davis, A. K., Johnson, M. W., & Jesse, R. (2019). Survey of subjective “God encounter experiences”: Comparisons among naturally occurring experiences and those occasioned by the classic psychedelics psilocybin, LSD, ayahuasca, or DMT. *PLOS ONE*, 14(4), e0214377. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214377>
- Hadamitzky, M., Markou, A., & Kuczenski, R. (2011). Extended access to methamphetamine self-administration affects sensorimotor gating in rats. *Behav Brain Res*, 217, 386–390. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.11.009>
- Hill, S. L., & Thomas, S. H. L. (2011). Clinical toxicology of newer recreational drugs. *Clinical Toxicology*, 49(8), 705–719. <https://doi.org/10.3109/15563650.2011.615318>
- Horsley, R. R., Lhotkova, E., Hajkova, K., Feriencikova, B., Himl, M., Kuchar, M., & Palenicek, T. (2018). Behavioural, Pharmacokinetic, Metabolic, and Hyperthermic Profile of 3,4-Methylenedioxypropylvalerone (MDPV) in the Wistar Rat. *Front Psychiatry*, 9, 144. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00144>

- Horsley, R. R., Lhotkova, E., Hajkova, K., Jurasek, B., Kuchar, M., & Palenicek, T. (2016). Detailed pharmacological evaluation of methoxetamine (MXE), a novel psychoactive ketamine analogue-Behavioural, pharmacokinetic and metabolic studies in the Wistar rat. *Brain Res Bull*, 126(Pt 1), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.05.002>
- Hyde, J. F., Browning, E., & Adams, R. (1928). Synthetic homologs of d,l-ephedrine. *Journal of the American Chemical Society*, 50(8), 2287–2292. <https://doi.org/10.1021/ja01395a032>
- Hyman, S. E., Malenka, R. C., & Nestler, E. J. (2006). Neural mechanisms of addiction: The role of reward-related learning and memory. *Annual Review of Neuroscience*, 29, 565–598. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.113009>
- Iversen, L., Gibbons, S., Treble, R., Setola, V., Huang, X.-P., & Roth, B. L. (2013). Neurochemical profiles of some novel psychoactive substances. *European Journal of Pharmacology*, 700(1), 147–151. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.12.006>
- Iversen, L., White, M., & Treble, R. (2014). Designer psychostimulants: Pharmacology and differences. *Neuropharmacology*, 87, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.01.015>
- Jacob, P., & Shulgin, A. (1996). *Preparation of Novel N-Substituted-2-Amino-3',4'-Methylenedioxy Propiophenone As Anti-Depressant and Anti-Parkinsonism Agents*. (Patent No. WO9639133).
- Jebadurai, J., Schifano, F., & Deluca, P. (2013). Recreational use of 1-(2-naphthyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone hydrochloride (NRG-1), 6-(2-aminopropyl) benzofuran (Benzofury/ 6-APB) and NRG-2 with review of available evidence-based literature. *Human*

Psychopharmacology-Clinical and Experimental, 28, 356–364.
<https://doi.org/10.1002/hup.2302>

Johnson, M. P., Conarty, P. F., & Nichols, D. E. (1991). [H-3] Monoamine Releasing and Uptake Inhibition Properties of 3,4-Methylenedioxymethamphetamine and Para-Chloroamphetamine Analogs. *European Journal of Pharmacology*, 200(1), 9–16.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(91\)90659-E](https://doi.org/10.1016/0014-2999(91)90659-E)

Johnson, M. P., Frescas, S. P., Oberlender, R., & Nichols, D. E. (1991). Synthesis and Pharmacological Examination of 1-(3-Methoxy-4-Methylphenyl)-2-Aminopropane and 5-Methoxy-6-Methyl-2-Aminoindan - Similarities to 3,4-(Methylenedioxy)Methamphetamine (MDMA). *Journal of Medicinal Chemistry*, 34(5), 1662–1668.
<https://doi.org/10.1021/jm00109a020>

Jones, R. S. G. (1982). Tryptamine: a neuromodulator or neurotransmitter in mammalian brain? *Progress in Neurobiology*, 19(1–2), 117–139. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(82\)90023-5](https://doi.org/10.1016/0301-0082(82)90023-5)

Kalix, P. (1991). The pharmacology of psychoactive alkaloids from Ephedra and Catha. *Journal of Ethnopharmacology*, 32(1–3), 201–208. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90119-X](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90119-X)

Karila, L., Billieux, J., Benyamina, A., Lançon, C., & Cottencin, O. (2016). The effects and risks associated to mephedrone and methylone in humans: A review of the preliminary evidences. *Brain Research Bulletin*, 126, 61–67.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.03.005>

Karila, L., Megarbane, B., Cottencin, O., & Lejoyeux, M. (2014). Synthetic Cathinones: A New Public Health Problem. *Current Neuropharmacology*, 13(1), 12–20.

<https://doi.org/10.2174/1570159x13666141210224137>

Karlsson, L., Andersson, M., Kronstrand, R., & Kugelberg, F. C. (2014). Mephedrone, Methyldone and 3,4-Methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) Induce Conditioned Place Preference in Mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, *115*(5), 411–416. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12253>

Kelly, B. C. (2011). Legally tripping: A qualitative profile of *Salvia divinorum* use among young adults. *Journal of Psychoactive Drugs*, *43*(1), 46–54. <https://doi.org/10.1080/02791072.2011.566500>

Kersten, B. P., & McLaughlin, M. pdfga. E. (2015). Toxicology and management of novel psychoactive drugs. *Journal of Pharmacy Practice*, *28*(1), 50–65. <https://doi.org/10.1177/0897190014544814>

Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 217–238. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.110>

Kopnisky, K. L., & Hyman, S. E. (2002). Molecular And Cellular Biology Of Addiction. In K. L. Davis, D. Charney, J. T. Coyle, & C. Nemeroff. (Eds.), *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress* (pp. 1367–1379). American College of Neuropsychopharmacology.

Kousara, S., Noreen Anjuma, S., Jaleela, F., Khana, J., & Naseema, S. (2017). *Biomedical Significance of Tryptamine: A Review*. <https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000239>

Krikorian, A. D. (1984). Kat and its use: An historical perspective. *Journal of Ethnopharmacology*, *12*(2), 115–178. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(84\)90047-3](https://doi.org/10.1016/0378-8741(84)90047-3)

- Laskowski, L. K., Elbakoush, F., Calvo, J., Exantus-Bernard, G., Fong, J., Poklis, J. L., Poklis, A., & Nelson, L. S. (2015). Evolution of the NBOMes: 25C- and 25B- Sold as 25I-NBOMe. *Journal of Medical Toxicology*, *11*(2), 237–241. <https://doi.org/10.1007/s13181-014-0445-9>
- Levin, N., Graham, B. E., & Kolloff, H. G. (1944). Physiologically active indanamines¹. *The Journal of Organic Chemistry*, *09*(4), 380–391. <https://doi.org/10.1021/jo01186a010>
- Lisek, R., Xu, W., Yuvashva, E., Chiu, Y. T., Reitz, A. B., Liu-Chen, L. Y., & Rawls, S. M. (2012). Mephedrone ('bath salt') elicits conditioned place preference and dopamine-sensitive motor activation. *Drug Alcohol Depend*, *126*(1–2), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2012.04.021>
- Loi, B., Corkery, J. M., Claridge, H., Goodair, C., Chiappini, S., Gimeno Clemente, C., & Schifano, F. (2015). Deaths of individuals aged 16-24 years in the UK after using mephedrone. *Hum Psychopharmacol*, *30*(4), 225–232. <https://doi.org/10.1002/hup.2423>
- López-Arnau, R., Martínez-Clemente, J., Pubill, D., Escubedo, E., & Camarasa, J. (2012). Comparative neuropharmacology of three psychostimulant cathinone derivatives: butylone, mephedrone and methylone. *British Journal of Pharmacology*, *167*(2), 407–420. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01998.x>
- Luethi, D., Liechti, M. E., & Krähenbühl, S. (2017). Mechanisms of hepatocellular toxicity associated with new psychoactive synthetic cathinones. *Toxicology*, *387*, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.06.004>
- McNamara, R. K., Logue, A., Stanford, K., Xu, M., Zhang, J., & Richtand, N. M. (2006). Dose-response analysis of locomotor activity and stereotypy in dopamine D3 receptor mutant mice following acute amphetamine. *Synapse*, *60*(5), 399–405.

<https://doi.org/10.1002/syn.20315>

- Measham, F., Moore, K., Newcombe, R., & (née Smith), Z. (2010). Tweaking, bombing, dabbing and stockpiling: The emergence of mephedrone and the perversity of prohibition. *Drugs and Alcohol Today*, *10*(1), 14–21. <https://doi.org/10.5042/daat.2010.0123>
- Meltzer, P. C., Butler, D., Deschamps, J. R., & Madras, B. K. (2006). 1-(4-Methylphenyl)-2-pyrrolidin-1-yl-pentan-1-one (Pyrovalerone) analogues: a promising class of monoamine uptake inhibitors. *J Med Chem*, *49*, 1420–1432. <https://doi.org/10.1021/jm050797a>
- Morris, H., & Wallach, J. (2014). From PCP to MXE: a comprehensive review of the non-medical use of dissociative drugs. *Drug Testing and Analysis*, *6*(7–8), 614–632. <https://doi.org/10.1002/dta.1620>
- Nichols, D. E., Hoffman, A. J., Oberlender, R. A., Jacob, P., & Shulgin, A. (1986). Derivatives of 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine: representatives of a novel therapeutic class. *Journal of Medicinal Chemistry*, *29*(10), 2009–2015. <https://doi.org/10.1021/jm00160a035>
- Nichols, D. E., & Oberlender, R. (1990). Structure-Activity-Relationships of Mdma and Related-Compounds - a New Class of Psychoactive-Drugs. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *600*, 613–625. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1990.tb16914.x>
- O'Donnell, J., Gladden, R. M., Goldberger, B. A., Mattson, C. L., & Kariisa, M. (2020). Notes from the Field:Opioid-Involved Overdose Deaths with Fentanyl or Fentanyl Analogs Detected — 28 States and the District of Columbia, July 2016–December 2018. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, *69*(10), 271–273. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6910a4>

- Palenicek, T., Balikova, M., Rohanova, M., Novak, T., Horacek, J., Fujakova, M., & Hoschl, C. (2011). Behavioral, hyperthermic and pharmacokinetic profile of paramethoxymethamphetamine (PMMA) in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 98(1), 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.12.011>
- Páleníček, T., Bubeníková, V., Votava, M., & Horáček, J. (2005). Účinky MDMA, LSD a psilocinu na lokomoci potkana. *Adiktologie*, 2, 120–130.
- Palenicek, T., Fujakova, M., Brunovsky, M., Horacek, J., Gorman, I., Balikova, M., Rambousek, L., Syslova, K., Kacer, P., Zach, P., Bubenikova-Valesova, V., Tyls, F., Kubesova, A., Puskarcikova, J., & Hoschl, C. (2013). Behavioral, neurochemical and pharmaco-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats. *Psychopharmacology*, 225(1), 75–93. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2797-7>
- Palenicek, T., Lhotkova, E., Zidkova, M., Balikova, M., Kuchar, M., Himl, M., Miksatkova, P., Cegan, M., Vales, K., Tyls, F., & Horsley, R. R. (2016). Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 69, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2016.04.004>
- Palenicek, T., Votava, M., Bubenikova, V., & Horacek, J. (2005). Increased sensitivity to the acute effects of MDMA (“ecstasy”) in female rats. *Physiol Behav*, 86(4), 546–553. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.043>
- Patel, N. B. (2000). Mechanism of action of cathinone: The active ingredient of khat (*Catha edulis*). *East African Medical Journal*, 77(6), 329–332. <https://doi.org/10.4314/eamj.v77i6.46651>

- Pathan, H., & Williams, J. (2012). Basic opioid pharmacology: an update. *British Journal of Pain*, 6(1), 11–16. <https://doi.org/10.1177/2049463712438493>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2003). *The rat brain in stereotaxic coordinates, 4th edn.* Elsevier, Academic Press.
- Pearson, J. M., Hargraves, T. L., Hair, L. S., Massucci, C. J., Frazee, C. C., Garg, U., & Pietak, B. R. (2012). Three fatal intoxications due to methylene. *Journal of Analytical Toxicology*, 36(6), 444–451. <https://doi.org/10.1093/jat/bks043>
- Perry, W., Minassian, A., Feifel, D., & Braff, D. L. (2001). Sensorimotor gating deficits in bipolar disorder patients with acute psychotic mania. *Biological Psychiatry*, 50(6), 418–424. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(01\)01184-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(01)01184-2)
- Piao, Y. S., Hall, F. S., Moriya, Y., Ito, M., Ohara, A., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y., Lesch, K. P., Murphy, D. L., Uhl, G. R., & Sora, I. (2015). Methylene-induced hyperthermia and lethal toxicity: Role of the dopamine and serotonin transporters. *Behavioural Pharmacology*, 26(4), 345–352. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000135>
- Pinterova-Leca, N., Horsley, R. R., Danda, H., Žídková, M., Lhotková, E., Šíchová, K., Štefková, K., Balíková, M., Kuchař, M., & Páleníček, T. (2020). Naphyrone (naphthylpyrovalerone): Pharmacokinetics, behavioural effects and thermoregulation in Wistar rats. *Addiction Biology*. <https://doi.org/10.1111/adb.12906>
- Pinterova, N., Horsley, R. R., & Palenicek, T. (2017). Synthetic Aminoindanes: A Summary of Existing Knowledge. *Frontiers in Psychiatry*, 8(236). <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00236>

- Prekupec, M. P., Mansky, P. A., & Baumann, M. H. (2017). Misuse of Novel Synthetic Opioids: A Deadly New Trend. *Journal of Addiction Medicine, 11*(4), 256–265. <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000324>
- Prosser, J. M., & Nelson, L. S. (2012). The Toxicology of Bath Salts: A Review of Synthetic Cathinones. *Journal of Medical Toxicology, 8*(1), 33–42. <https://doi.org/10.1007/s13181-011-0193-z>
- Rácz, J., Csák, R., & Lisznyai, S. (2015). Transition from “old” injected drugs to mephedrone in an urban micro segregate in Budapest, Hungary: A qualitative analysis. *Journal of Substance Use, 20*(3), 178–186. <https://doi.org/10.3109/14659891.2014.895872>
- Ramsey, J., Dargan, P. I., Smyllie, M., Davies, S., Button, J., Holt, D. W., & Wood, D. M. (2010). Buying “legal” recreational drugs does not mean that you are not breaking the law. *QJM, 103*(10), 777–783. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcq132>
- Rickli, A., Hoener, M. C., & Liechti, M. E. (2015). Monoamine transporter and receptor interaction profiles of novel psychoactive substances: para-halogenated amphetamines and pyrovalerone cathinones. *Eur Neuropsychopharmacol, 25*, 365–376. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2014.12.012>
- Schifano, F., Corkery, J., & Ghodse, A. H. (2012). Suspected and confirmed fatalities associated with mephedrone (4-methylmethcathinone, “meow meow”) in the United Kingdom. *J Clin Psychopharmacol, 32*(5), 710–714. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e318266c70c>
- Scotton, W. J., Hill, L. J., Williams, A. C., & Barnes, N. M. (2019). Serotonin Syndrome: Pathophysiology, Clinical Features, Management, and Potential Future Directions. In *International Journal of Tryptophan Research* (Vol. 12). SAGE Publications Ltd.

<https://doi.org/10.1177/1178646919873925>

Seely, K. A., Lapoint, J., Moran, J. H., & Fattore, L. (2012). Spice drugs are more than harmless herbal blends: A review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 39(2), 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.04.017>

Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments*, 96, 52434. <https://doi.org/10.3791/52434>

Shortall, S. E., Macerola, A. E., Swaby, R. T., Jayson, R., Korsah, C., Pillidge, K. E., Wigmore, P. M., Ebling, F. J., Richard Green, A., Fone, K. C., & King, M. V. (2013). Behavioural and neurochemical comparison of chronic intermittent cathinone, mephedrone and MDMA administration to the rat. *Eur Neuropsychopharmacol*, 23(9), 1085–1095. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.09.005>

Shulgin, A., & Shulgin, A. (1991). *PiHKAL - Phenethylamines I Have Known And Loved; A Chemical Love Story*. Transform Press.

Shulgin, A., & Shulgin, A. (1997). *TiHKAL - Tryptamines I Have Known And Loved; continuation*. Transform Press.

Sichova, K., Pinterova, N., Zidkova, M., Horsley, R. R., Lhotkova, E., Stefkova, K., Vejmla, C., Uttl, L., Balikova, M., Kuchar, M., & Palenicek, T. (2017). Mephedrone (4-Methylmethcathinone): Acute Behavioral Effects, Hyperthermic, and Pharmacokinetic Profile in Rats. *Front Psychiatry*, 8, 306. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00306>

- Simmler, L. D., Buser, T. A., Donzelli, M., Schramm, Y., Dieu, L. H., Huwyler, J., Chaboz, S., Hoener, M. C., & Liechti, M. E. (2013). Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. *Br J Pharmacol*, *168*(2), 458–470. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02145.x>
- Solomons, E., & Sam, J. (1973). 2-Aminoindans of Pharmacological Interest. *Journal of Medicinal Chemistry*, *16*(12), 1330–1333. <https://doi.org/10.1021/jm00270a004>
- Spaderna, M., Addy, P. H., & D'Souza, D. C. (2013). Spicing things up: Synthetic cannabinoids. *Psychopharmacology*, *228*(4), 525–540. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3188-4>
- Spanos, L. J., & Yamamoto, B. K. (1989). Acute and subchronic effects of methylenedioxymethamphetamine [(±)MDMA] on locomotion and serotonin syndrome behavior in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *32*(4), 835–840. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(89\)90044-0](https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90044-0)
- Spencer, R. C., Devilbiss, D. M., & Berridge, C. W. (2015). The cognition-enhancing effects of psychostimulants involve direct action in the prefrontal cortex. *Biol Psychiatry*, *77*, 940–950. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.09.013>
- Spiller, H. A., Ryan, M. L., Weston, R. G., & Jansen, J. (2011). Clinical experience with and analytical confirmation of “bath salts” and “legal highs” (synthetic cathinones) in the United States. *Clinical Toxicology*, *49*(6), 499–505. <https://doi.org/10.3109/15563650.2011.590812>
- Sporer, K. A. (1995). The Serotonin Syndrome: Implicated Drugs, Pathophysiology and Management. *Drug Safety*, *13*(2), 94–104. <https://doi.org/10.2165/00002018-199513020-00004>

- Štefková, K., Židková, M., Horsley, R. R., Pinterová, N., Šíchová, K., Uttl, L., Balíková, M., Danda, H., Kuchař, M., & Páleníček, T. (2017). Pharmacokinetic, Ambulatory, and Hyperthermic Effects of 3,4-Methylenedioxy-N-Methylcathinone (Methylone) in Rats. *Frontiers in Psychiatry*, 8(232). <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00232>
- Swanson, D., Hair, L., Strauch Rivers, S., Smyth, B., Brogan, S., Ventoso, A., Vaccaro, S., & Pearson, J. (2017). Fatalities Involving Carfentanil and Furanyl Fentanyl: Two Case Reports. *Journal of Analytical Toxicology*, 41(6), 498–502. <https://doi.org/10.1093/JAT/BKX037>
- Szendrei, K. (1980). The chemistry of khat. *Bulletin on Narcotics*, 32(3), 5–35.
- Tormey, W. P., & Moore, T. (2013). Poisonings and clinical toxicology: a template for Ireland. *Irish Journal of Medical Science*, 182(1), 17–23. <https://doi.org/10.1007/s11845-012-0828-3>
- Upton, R. N., & Doolette, D. J. (1999). Kinetic aspects of drug disposition in the lungs. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 26, 381–391. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1440-1681.1999.03048.x?sid=nlm%3Apubmed>
- Valente, M. J., Guedes De Pinho, P., De Lourdes Bastos, M., Carvalho, F., & Carvalho, M. (2014). Khat and synthetic cathinones: A review. *Archives of Toxicology*, 88(1), 15–45. <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1163-9>
- van Amsterdam, J., Nutt, D., & van den Brink, W. (2013). Generic legislation of new psychoactive drugs. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 27(3), 317–324. <https://doi.org/10.1177/0269881112474525>

- Vetulani, J. (2001). REVIEW DRUG ADDICTION. PART II. NEUROBIOLOGY OF ADDICTION. *Polish Journal of Pharmacology Pol. J. Pharmacol*, 53, 303–317.
- Volpi-Abadie, J., Kaye, A. M., & Kaye, A. D. (2013). Serotonin syndrome. *The Ochsner Journal*, 13(4), 533–540. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24358002>
- Warrick, B. J., Wilson, J., Hedge, M., Freeman, S., Leonard, K., & Aaron, C. (2012). Lethal Serotonin Syndrome After Methylone and Butylone Ingestion. *Journal of Medical Toxicology*, 8(1), 65–68. <https://doi.org/10.1007/s13181-011-0199-6>
- Weil, A. T., & Davis, W. (1994). Bufo alvarius: a potent hallucinogen of animal origin. *Journal of Ethnopharmacology*, 41(1–2), 1–8. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)90051-5](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90051-5)
- Weiss, I. C., & Feldon, J. (2001). Environmental animal models for sensorimotor gating deficiencies in schizophrenia: A review. *Psychopharmacology*, 156(2–3), 305–326. <https://doi.org/10.1007/s002130100800>
- Winstock, A., Mitcheson, L., Ramsey, J., Davies, S., Puchnarewicz, M., & Marsden, J. (2011). Mephedrone: use, subjective effects and health risks. *Addiction*, 106(11), 1991–1996. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2011.03502.x>
- Wise, R. A., & Rompre, P. P. (1989). Brain dopamine and reward. *Annual Review of Psychology*, 40, 191–225. <https://doi.org/10.1146/annurev.ps.40.020189.001203>
- Wood, D. M., Davies, S., Greene, S. L., Button, J., Holt, D. W., Ramsey, J., & Dargan, P. I. (2010). Case series of individuals with analytically confirmed acute mephedrone toxicity. *Clin Toxicol (Phila)*, 48(9), 924–927. <https://doi.org/10.3109/15563650.2010.531021>
- Wood, D. M., Greene, S. L., & Dargan, P. I. (2011). Clinical pattern of toxicity associated with

the novel synthetic cathinone mephedrone. *Emerg Med J*, 28(4), 280–282.
<https://doi.org/10.1136/emj.2010.092288>

Zaami, S., Giorgetti, R., Pichini, S., Pantano, F., Marinelli, E., & Busardò, F. P. (2018). Synthetic cathinones related fatalities: an update. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22(1), 268–274. https://doi.org/10.26355/eurrev_201801_14129

Zawilska, J. B., & Wojcieszak, J. (2013). Designer cathinones-An emerging class of novel recreational drugs. *Forensic Science International*, 231(1–3), 42–53.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.04.015>

12. PUBLIKACE A PREZENTACE AUTORA

12.1. Seznam publikací *in extenso*, které jsou podkladem disertační práce

S IF

- Štefková K., Židková M., Horsley R. R., **Pinterová N.** et al. (2017). Pharmacokinetic, ambulatory, and hyperthermic effects of 3,4-Methylenedioxy-N-Methylcathinone (Methylone) in rats. *Frontiers in Psychiatry* 8(232):1-11. IF: 2.857/2017.
- Šichová K., **Pinterová N.**, Židková M., Horsley R. R. et al. (2018). Mephedrone (4-Methylmethcathinone): acute Behavioral effects, hyperthermic, and Pharmacokinetic Profile in rats. *Frontiers in Psychiatry* 8(306):1-11. IF: 3.161/2018.
- **Pinterova N.**, Horsley R. R., Palenicek T. (2018). Synthetic Aminoindanes: A Summary of Existing Knowledge. *Frontiers in Psychiatry* 8(236):1-7. IF: 2.857/2017.
- **Pinterova-Leca N.**, Horsley R. R., Danda H., Židková M. et al. (2020). Naphyrone (naphthylpyrovalerone): Pharmacokinetics, behavioural effects and thermoregulation in Wistar rats. *Addiction Biology* e12906. IF: 4.121/2019.

Bez IF

- Danda H., **Leca N.**, Štefková K., Syrová K., Páleníček T. (2020). Nové psychoaktivní substance. *Zaostřeno* 6 (1), 1–20.

Manuskripty

- Štefková-Mazochová K., Danda H., Dehaen W., Jurásek B., Šíchová K., **Pinterová-Leca** N., Mazoch V., Hřčka Krausová B., Kysilov B., Smejkalová T., Vyklický L., Kohout M., Hájková K., Svozil D., Horsley R.R., Kuchař M., Páleníček T. Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and behavioural studies of dissociative anaesthetic deschloroketamine (DCK) in Wistar rats.
- Danda H., **Pinterová-Leca** N., Šíchová K., Štefková K., Syrová K., Olejníková L., Končická M., Mazoch V., Páleníček T. Abuse potential of novel psychoactive substance naphyrone – conditioned place preference in Wistar rats.

12.2. Seznam publikací *in extenso*, bez vztahu k disertační práci

S IF

- Skulec R., Astapenko D., Cerna Parizkova R., Furst B., Bilaska M., Parizek T., Hovanec T., **Pinterova** N. et al. (2018). Novel patterns of left ventricular mechanical activity during experimental cardiac arrest in pigs. *Physiol Res*, 67(3):391-399. IF: 1.701/2018.
- Mutlu, O., Páleníček, T., **Pinterová, N.**, Šíchová, K., Horáček, J. et al. (2018). Effects of the adipokinetic hormone/red pigment-concentrating hormone (AKH /RPCH) family of peptides on MK -801-induced schizophrenia models. *Fundam Clin Pharmacol*, 32: 589-602. IF: 2.229/2018.

13. SEZNAM PŘÍLOH

1. Štefková K., Židková M., Horsley R. R., **Pinterová N.** et al. (2017). Pharmacokinetic, ambulatory, and hyperthermic effects of 3,4-Methylenedioxy-N-Methylcathinone (Methylone) in rats. *Frontiers in Psychiatry* 8(232):1-11.
2. Šíchová K., **Pinterová N.**, Židková M., Horsley R. R. et al. (2018). Mephedrone (4-Methylmethcathinone): acute Behavioral effects, hyperthermic, and Pharmacokinetic Profile in rats. *Frontiers in Psychiatry* 8(306):1-11.
3. **Pinterova N.**, Horsley R. R., Palenicek T. (2018). Synthetic Aminoindanes: A Summary of Existing Knowledge. *Frontiers in Psychiatry* 8(236):1-7.
4. **Pinterova-Leca N.**, Horsley R. R., Danda H., Židková M. et al. (2020). Naphyrone (naphthylpyrovalerone): Pharmacokinetics, behavioural effects and thermoregulation in Wistar rats. *Addiction Biology* e12906.
5. Danda H., **Leca N.**, Štefková K., Syrová K., Páleníček T. (2020). Nové psychoaktivní substance. *Zaostřeno* 6 (1), 1–20.
6. Danda H., **Pinterová-Leca N.**, Šíchová K., Štefková K., Syrová K., Olejníkoví L., Končická M., Mazoch V., Páleníček T. Abuse potential of novel psychoactive substance naphyrone – conditioned place preference in Wistar rats.
7. Štefková-Mazochová K., Danda H., Dehaen W., Jurásek B., Šíchová K., **Pinterová-Leca N.**, Mazoch V., Hřčka Krausová B., Kysilov B., Smejkalová T., Vyklický L., Kohout M., Hájková K., Svozil D., Horsley R.R., Kuchař M., Páleníček T. Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and behavioural studies of dissociative anaesthetic deschloroketamine (DCK) in Wistar rats.