

**UNIVERZITA KARLOVA
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

Nové syntetické drogy – neurobiologie účinku, toxicita a návykový potenciál

Nikola Leca

2020

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Neurovědy

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Školící pracoviště: Národní ústav duševního zdraví

Autor: Mgr. Nikola Leca

Školitel: MUDr. Tomáš Páleníček, Ph.D.

Konzultant (byl-li): ---

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne:vhod.

kde:

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

OBSAH

ABSTRAKT	4
ABSTRACT.....	5
ÚVOD.....	6
CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY	7
MATERIÁL A METODIKA.....	8
Laboratorní potkani.....	8
Drogy	8
Behaviorální metody.....	8
Tělesná teplota	9
Mikrodialýza	10
Farmakokinetika	10
Statistická analýza dat.....	10
VÝSLEDKY	11
Test otevřeného pole.....	11
Test prepulzní inhibice.....	11
Test podmíněné preference místa	11
Tělesná teplota	11
Farmakokinetika	12
Akutní toxicita	12
Mikrodialýza	12
DISKUZE	13
ZÁVĚR	16
POUŽITÁ LITERATURA	17
PUBLIKACE A PREZENTACE AUTORA	21
Seznam publikací <i>in extenso</i> , které jsou podkladem disertační práce	21
Seznam publikací <i>in extenso</i> , bez vztahu k disertační práci	22

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 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 neohledně 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, metylon 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, metylon 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), methylone 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.

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 produkovaní 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 prekursoru 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 katinonů a přispěli tak k rozšíření dostupných poznatků.

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.

MATERIÁL A METODIKA

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 umístění 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*. 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.

Drogy

Substance použité v této studii byly mefedron, metylon, nafyron (NSD) a metamfetamin. NSD byly zakoupeny prostřednictvím internetu a následně konvertovány na příslušný hydrochlorid společností Alfarma s.r.o. (Česká republika). Metamfetamin hydrochlorid byl získán darem od Kriministického ústavu Praha, přečištěný na čistotu $\geq 98\%$. Skladování drog bylo na suchém a tmavém místě, bezprostředně před experimentem byla příslušná droga rozpuštěna ve fyziologickém roztoku (0.9 % NaCl) a aplikována subkutánně (s.c.) v objemu 2 ml/kg. Použité dávky do behaviorálních pokusů: **Mefedron:** OF, PPI 2.5, 5 a 20 mg/kg; termoregulační experiment 5 a 20 mg/kg; farmakokinetika 5 mg/kg. **Metylon:** 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. **Nafyron:** Použité dávky do behaviorálních pokusů: OF, PPI, CPP 5, 10 a 20 mg/kg; termoregulační experiment 20 mg/kg; farmakokinetika 10 mg/kg. **Metamfetamin:** CPP 1.5 mg/kg a 1 m/kg pro mikrodialyzační experiment.

Behaviorální metody

Test otevřeného pole (OF). 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. 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} (Σ timecentrální 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).

Test prepulzní inhibice (PPI). Pro měření úlekové reakce a prepulzní inhibice byly použity 2 úlekové komory 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).

Podmíněná preference místa (CPP). 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. 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 explarovat 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 zavřená. 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.

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.

Mikrodialýza

Potkani byli anestezizováni inhalačním anestetikem (Isofluran) a umístěni do stereotaktického zařízení. Po očištění lebky od tkání a zaměření koordinát byl vyvrtán vstup pro vodič. 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 do NAcc shell. Proba byla napojena na pumpu a promývána Ringrovým roztokem o průtoku 2 μ l/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.

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 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 .

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 (předpodmiňovací, 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.

VÝSLEDKY

Test otevřeného pole

Všechny dávky **mefedronu** (2.5 mg/kg, 5 mg/kg a 20 mg/kg) signifikantně zvýšily lokomoci ve všech 5 min intervalech v čase testování 5 min od administrace ($p < 0.001$). U všech dávek **metylonu** (5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg) byla pozorována signifikantně delší trajektorie, tedy zvýšená lokomoce v obou časech po aplikaci (15 min resp. 60 min) [minimum $t(13) = 5.17$, $p < 0.001$] resp. [minimum $t(12) = 2.99$, $p < 0.05$]. Všechny dávky **nafyronu** (5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg) signifikantně zvýšily lokomoci ve všech 5 min intervalech v čase testování 60 min od administrace [minimum $t(18) = 2.21$, $p < 0.05$]. V časovém odstupu od administrace 15 min byla prokázána signifikantně vyšší lokomoce od druhého až po šestý 5min interval u všech dávek nafyronu (5 mg/kg, 10 mg/kg a 20 mg/kg) [minimum $t(11) = 2.24$, $p < 0.05$].

Skupiny po podání **mefedronu** 2.5 mg/kg a 5 mg/kg, čas testování 5 min po administraci, strávily v porovnání s kontrolou signifikantně více času v centru arény ($p < 0.001$). Naopak nejvíce času na periferii trávili potkani po dávce 20 mg/kg, čas testování 5 min po podání mefedronu ($p < 0.001$). 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 $t(11) = 3.44$, $p < 0.05$]. Všechny dávky **nafyronu** (nehledě na čas od administrace) zvýšily oproti kontrolní skupině čas strávený v centru [minimum $t(25) = 5.03$, $p < 0.001$] a snížily výskyt potkanů v periferních zónách [minimum $t(38) = 2.03$, $p < 0.05$].

Test pulzní inhibice

Mefedron ani **metylon** neměly signifikantní vliv na prepulzní inhibici. Prokázán byl pouze marginální efekt **mefedronu** 5 mg/kg a 20 mg/kg v čase testování 40 min po aplikaci ($p = 0.062$ resp. $p = 0.081$) na disruptci PPI. **Nafyron** 20 mg/kg signifikantně navýšil PPI v čase 15 min od administrace ($t(18) = 1.91$, $p = 0.1$).

Test podmíněné preference místa

Signifikantní vliv na čas strávený v aréně spojené s **nafyronem** měla dávka [F (1, 46) = 31.78], $p < 0.0001$]. Signifikantní navýšení preferenčního skóre bylo prokázáno u dávky nafyronu 5 mg/kg ($p = 0.0352$), 20 mg/kg ($p = 0.007$) a metamfetaminu 1.5 mg/kg ($p = 0.0305$) v porovnání závěrečný test vs. předpodmiňovací test. Nafyron 10 mg/kg byl na hranici statistické významnosti ($p = 0.0752$).

Tělesná teplota

Všechny testované NSD měly signifikantní vliv na teplotu. **Mefedron** 20 mg/kg signifikantně navýšil teplotu 1 h po administraci (samostatně ustájení potkani) po dobu trvání 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** 10 mg/kg a 20 mg/kg signifikantně zvýšil tělesnou teplotu u samostatně ustájených potkanů 30 min po administraci trvajícím 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 10 mg/kg resp. 20 mg/kg trvající 1.5 h resp. 2 h [minimum $t(18) = 2.6$, $p < 0.05$] resp. [minimum $t(18) = 2.46$, $p < 0.05$]. **Nafyron 20 mg/kg** statisticky významně zvýšil teplotu ihned po administraci trvající dále 4 h [minimum $t(38) = 3.42$, $p = 0.001$] bez ohledu na podmínky ustájení.

Farmakokinetika

Maximální průměrná koncentrace všech testovaných NSD v séru, mozku a plicní tkáni byla dosažena 30 min po administraci.

Maximální průměrná koncentrace v séru ve 30 min – **mefedron**: 826.2 ng/ml, **metylon**: 2316.37 ng/ml, **nafyron**: 269 ng/ml.

Maximální průměrná koncentrace v mozku – **mefedron**: 767 ng/g, **metylon**: 10523.4 ng/g, **nafyron**: 1737 ng/g.

Maximální průměrná koncentrace v plicní tkáni – **mefedron**: 1044.5 ng/g, **nafyron**: 3025 ng/g.

Akutní toxicita

Potkani v rámci testu PPI 2 h po s.c. aplikaci **metylonu** 40 mg/kg pouze leželi a nevykazovali žádné známky chování. Do 24 h šest potkanů z deseti uhynulo. Další sady experimentů byly v návaznosti na popsání skutečnosti zrušeny.

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.

Metamfetamin: na hladinu dopaminu měl signifikantní vliv čas (administrace metamfetaminu) [$F(11, 77) = 28.614$, $p < 0.001$]. Následně 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 ($p < 0.001$).

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 metylon 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 neefektivnější 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 explorační a sníženou anxiétou, 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; Páleníček et al., 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 tigmataxi (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 fenetylaminami, 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 neohledně 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 serotonergní 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 KO¹ myšmi, přičemž letalita se týkala pouze SERT KO myši. Tento poznatek nasvědčuje tomu, že letalita metylonu je asociována s dopaminergním systémem.

¹ Knock-out – vyřazení genu z funkce

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.

POUŽITÁ LITERATURA

- Aarde, S. M., Huang, P. K., Creehan, K. M., Dickerson, T. J., & Taffe, M. A. (2013). The novel recreational drug 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (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>
- 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>
- 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>
- 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/10.1097/00008877-200503000-00009>
- 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>
- 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 (naphthylpropylamphetamine). *Clin Toxicol (Phila)*, *49*(7), 691–693. <https://doi.org/10.3109/15563650.2011.592838>
- 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 Methylone and Its Metabolites in Rats. *Neuropsychopharmacology*, *42*(3), 649–660. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.213>
- EMCDDA. (2017). *European Drug Report 2017: Trends and Developments*. Publications Office of the European Union.
- 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>
- 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>
- 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>

- 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-Methylenedioxypropylamphetamine (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>
- 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>
- 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>
- Karlsson, L., Andersson, M., Kronstrand, R., & Kugelberg, F. C. (2014). Mephedrone, Methylone 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>
- Lisek, R., Xu, W., Yuvasheva, 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>
- 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>

- Palenicek, T., Balikova, M., Rohanova, M., Novak, T., Horacek, J., Fujakova, M., & Hoschl, C. (2011). Behavioral, hyperthermic and pharmacokinetic profile of para-methoxymethamphetamine (PMMA) in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *98*(1), 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.12.011>
- 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>
- Páleníček, T., Lhotková, E., Žídková, M., Balíková, M., Kuchař, M., Himl, M., Mikšátková, P., Čegan, M., Valeš, K., Tylš, F., & Horsley, R. R. (2016). Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological 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>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2003). *The rat brain in stereotaxic coordinates, 4th edn*. Elsevier, Academic Press.
- 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). Methylone-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>
- 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>
- 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>
- 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>
- 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>

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>

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>

PUBLIKACE A PREZENTACE AUTORA

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., Šichová 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.**, Šichová 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.

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

S IF

- Skulec R., Astapenko D., Cerna Parizkova R., Furst B., Bilska 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.