

# Kvalitativna analiza novih psihoaktivnih droga

---

**Gustovarac, Adriana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split / Sveučilište u Splitu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:028810>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-25**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija  
SVEUČILIŠTE U SPLITU

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**ADRIANA GUSTOVARAC**

**KVALITATIVNA ANALIZA NOVIH PSIHOAKTIVNIH  
DROGA**

**Završni rad**

Split, 2016. Godina

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**ADRIANA GUSTOVARAC**

**KVALITATIVNA ANALIZA NOVIH PSIHOAKTIVNIH  
DROGA**

**QUALITATIVE ANALYSIS OF THE NOVEL  
PSYCHOACTIVE DRUGS**

**Završni rad**

**Bachelor's Thesis**

Mentor:

**Prof. dr. sc. Davorka Sutlović**

Split, 2016. Godina

## SADRŽAJ :

<b>1. UVOD .....</b>	<b>4</b>
1.1. Sredstva ovisnosti .....	4
1.2. Psihoaktivne droge.....	4
1.3. Nove psihoaktivne droge .....	6
1.4. Svrha kvalitativne analize novih psihoaktivnih droga .....	15
1.5. Metode kvalitativne analize novih psihoaktivnih spojeva .....	16
1.5.2. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (GC – MS) .....	18
<b>2. CILJEVI.....</b>	<b>21</b>
<b>3. MATERIJALI I METODE.....</b>	<b>22</b>
3.1. Popis pribora i instrumenata .....	22
3.2. Izbor uzoraka za analizu .....	22
3.3. Metode ekstrakcije .....	23
3.3.1. Ekstrakcija tekuće – tekuće (LLE) .....	23
3.3.2. Ekstrakcija čvrstom fazom .....	24
3.4. Instrumentalna analiza uzorka.....	24
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>25</b>
4.1. Standardi .....	25
4.2. Uzorci .....	30
<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>35</b>
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>37</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>38</b>
<b>8. SAŽETCI .....</b>	<b>41</b>
8.1. Sažetak .....	41
8.2. Abstract.....	42
<b>9. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>43</b>

# 1. UVOD

## 1.1. Sredstva ovisnosti

Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization [WHO]) definirala je sredstva ovisnosti kao svaku supstancu, koja je u stanju, kada se nađe u živom organizmu, modificirati njegovu jednu ili više funkcija i nakon ponovljene upotrebe dovesti do psihičke ili fizičke ovisnosti (1). Ovisnost o takvim tvarima je, osim fizičkog i psihičkog tipa, najčešće kombinacija tih dvaju tipova. Ovisnost je stanje koje obilježava promjena ponašanja i drugih psihičkih procesa koji uvijek uključuju prisilu daljnjeg uzimanja sredstava ovisnosti radi postizanja ugone ili uklanjanja nelagode koja se javlja zbog prekida njihova uzimanja. Psihička ovisnost označava neodoljivu želju za sredstvom ovisnosti, a znakovi apstinencijske krize (apstinencijski sindrom) psihičke su naravi. Fizička ovisnost stanje je prilagodbe organizma na sredstva ovisnosti, koje se očituje karakterističnim fizičkim poremećajima nakon prestanka uzimanja tih sredstava (2).

Kada govorimo o ovisnosti, danas najčešće mislimo na zlouporabu sredstava koje dovode do ovisnosti, odnosno psihoaktivnih (opojnih) droga.

## 1.2. Psihoaktivne droge

Psihoaktivne tvari (droge), često nazivani i narkotici su kemijske tvari (prirodne ili sintetske) izrazitog fiziološkog učinka, koje mijenjaju moždanu funkciju, što rezultira privremenom promjenom percepcije, raspoloženja, svijesti ili ponašanja te koja nakon ponavljane uporabe mogu izazvati naviku, a s vremenom i nesavladivu potrebu za daljnjim uzimanjem, često uz postupno povećavanje doze (3). Ovakve tvari se često koriste u rekreativnoj uporabi ili kao poticaj u spiritualne svrhe, ali koriste se i kao lijekovi, posebice za liječenje neuroloških i psihičkih bolesti. Konzumacija psihoaktivnih droga seže do pretpovijesti. Arheološki dokazi ukazuju na uporabu psihoaktivnih tvari (najčešće biljaka) koji datiraju unazad barem 10.000 godina dok povijesni dokazi kulturološke uporabe psihoaktivnih tvari datiraju unazad 5.000 godina. Za primjer možemo uzeti žvakanje lišća biljke koke (*Erythroxylum coca*) drevnih

civilizacija današnjeg Perua koje seže unazad barem 8.000 godina. Upotreba psihoaktivnih tvari u povijesti nije se značajno promijenila do danas. Od davnina, jednako se koriste u medicinske svrhe kao i za religijske rituale, tako su primjerice opijati dobiveni iz mliječnog soka nedozrelih glavica biljke bijelog maka (*Papaverum somniferum*) korišteni u Mezopotamiji prije 7.000 godina, a koriste se i danas u gotovo svim bolničkim ustanovama u obliku morfina za analgeziju.

Uporaba kanabisa (*Cannabis sativa*) započinje 5.000 godina prije Krista u Kini gdje se uglavnom koristio u religijskim ritualima, te u medicinske svrhe, a danas predstavlja najrasprostranjeniju i najčešće korištenu psihoaktivnu drogu (4).

Halucinogeni su spojevi nešto „novije povijesti“ čija uporaba seže unatrag 2.000 godina. Drevne američke civilizacije koristile su meskalin, psihoaktivni alkaloid Peyote kaktusa u religijske svrhe (5), dok su Maje za iste svrhe koristile psilocibin gljiva roda *Psilocybe* (6).

Prema podrijetlu i farmakološkim osobinama, droge dijelimo na :

1. Opijate (opijum iz kojeg se sintetizira heroin, kodein, papaverin i noskapin)
2. Depresante (barbituratni i nebarbituratni sedativi, benzodiazepini)
3. Psihostimulanse (amfetamin i njegovi derivati, kokain)
4. Kanabinoide (produkti biljke *Cannabis sativa*, marihuana, hašiš)
5. Halucinogene (LSD, DMT, psilocibin, meskalin)

U novije vrijeme sve više zamaha uzimaju takozvane „dizajnerske droge“ (engl. „designer drugs“), poznate još i kao legalne droge jer ih je moguće potpuno zakonito kupiti na internetu ili u tzv. „smart-shopovima“. Po djelovanju na organizam, slične su ilegalnim drogama, ali po kemijskoj strukturi dovoljno različite da zaobiđu zakonske zabrane pa njihova komercijalna dostupnost predstavlja veliki problem današnjice.

### 1.3. Nove psihoaktivne droge

Sve veća dostupnost „novih psihoaktivnih tvari” koje nisu kontrolirane međunarodnim ugovorima za suzbijanje zlouporabe droga predstavlja relativno novu pojavu na svjetskim tržištima droga. Takve se tvari danas mogu nabaviti preko internetskih trgovaca, u specijaliziranim trgovinama, a ponekad se, također, prodaju i na nezakonitom tržištu droge.

„Nove psihoaktivne tvari“ (kratica: NPS; engl. Novel/New Psychoactive Substances) skupni je naziv koji se odnosi na tvari koje oponašaju djelovanje dosada poznatih ilegalnih droga (na primjer, metamfetamina i kanabisa), ali za razliku od istih, njihova upotreba nije zakonski zabranjena. Novosintetizirane psihoaktivne tvari predstavljaju značajnu opasnost po zdravlje i sigurnost zajednice jer su dizajnirane namjerno kako bi izbjegle međunarodne zakonske kontrole. Kao i uobičajene ilegalne droge, poznato je da i NPS imaju negativne kratkotrajne nuspojave kao što su paranoja, psihoze i psihotični napadaji, no njihova potpuna štetnost kao ni dugotrajni učinak na zdravlje nisu do kraja istraženi jer su materijali iz kojih se takve tvari sintetiziraju novi i također su nedovoljno ispitani. Općenito, istraživanja novih psihoaktivnih tvari su veoma ograničena. Nema opsežnih znanstvenih ispitivanja o njihovoj toksičnosti, a svi dosada poznati podaci o novim psihoaktivnim drogama dobiveni su istraživanjem bilo na životinjskim uzorcima, obradom slučaja trovanja sa smrtnim ishodom ili kliničkim praćenjem intoksiciranih pacijenata. Toksičnost i rizici po zdravlje nastali dugotrajnom konzumacijom takvih droga i dalje ostaju nepoznati (7).

S obzirom na narav produkcije novih psihoaktivnih tvari kao i na njihovo izbjegavanje dosadašnjih zakonskih zabrana koje se tiču zlouporabe droga, one se tržišno distribuiraju kao takozvane „legal-high“ (hrv. „legalice“) proizvodi, odnosno „legalna droga“ koja se kao takva vrlo jednostavno može kupiti u tzv. „smart-shop“ trgovinama (trgovine koje obično prodaju opremu za konzumaciju duhana i kanabisa) kao i na internetu. Kako dobavljači takvih tvari često posluju na margini zakona, njihovi proizvodi ne impliciraju da se radi o drogi, već ih prodaju označene kao soli za kupanje, kemikalije namijenjene istraživanju, osvježivače prostora, biljna hrana i slično. Naravno, nema dokaza koji bi potvrdili da su se takvi proizvodi ikad koristili u navedene svrhe jer njihove oznake ili ambalaža gotovo neznatno sugeriraju da se radi o

tabletama, mješavinama za pušenje ili biljnim preparatima sa psihoaktivnim djelovanjem (8).

Ured Ujedinjenih naroda za suzbijanje kriminala i zloporabe droge (engl. The United Nations Office on Drugs and Crime; kratica: UNODC) standardizirao je naziv „nove psihoaktivne tvari“ (kratica: NPS) koje možemo na temelju kemijske strukture podijeliti na:

1. Sintetičke kanabinoide
2. Sintetičke katinone
3. Ketamin
4. Fenetilamine
5. Piperazine
6. Tvari biljnog podrijetla:
  - I. Khat
  - II. Kratom
  - III. *Salvia divinorum*
7. Ostalo:
  - I. Aminoindani
  - II. Fenciklidini
  - III. Triptamini

### **1.3.1. Sintetički kanabinoidi**

Sintetički kanabinoidi skupni je naziv za spojeve koji oponašaju učinak  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinola (THC-a) kojeg je moguće prirodno naći u biljci indijske konoplje (*Cannabis sativa*) koja ima psihoaktivni učinak. Za razliku od prirodnog tetrahidrokanabinola, sintetički kanabinoidi su četiri do sto puta potentniji pa se vežu mnogo većim afinitetom od tetrahidrokanabinola na kanabinoidne receptore CB1 u mozgu i leđnoj moždini te na CB2 receptore u slezeni. Učinci sintetičkih kanabinoida su vrlo slični učincima marihuane i zapažaju se desetak minuta nakon konzumacije pušenjem. Prvo se uočava crvenilo konjunktive, ubrzan puls, kserostomija (suhoća usta), promjena raspoloženja i percepcije nakon čega nastupa blaga euforija koja prelazi u opuštenost. Promijenjeno je stanje svijesti, doživljaj za vrijeme je produljen, a



osjetljivost na slike, zvukove i dodir se pojačava. Učinak traje oko 6 sati, ali posljedice konzumacije mogu se primjetiti čak i sljedećeg dana (9).

Po kemijskoj strukturi sintetički kanabinoidi nisu slični prirodnim, ali termin sintetički kanabinoidi ili kanabimimetici je u širokoj upotrebi jer na pravi način odražava njihovu aktivnost sličnu kanabisu („cannabis like effects“). Prema kemijskoj strukturi, klasificirani su u 6 grupa [predloženo od strane Howletta (10) i Thakura (11)]:

1. *klasični kanabinoidi* (THC i druge komponente kanabisa kao i strukturno slični sintetički analozi: HU-210, AM-906, AM-411, O-1184)
2. *neklasični kanabinoidi* (cikloheksilfenoli i 3-arilcikloheksanoli kao što su CP-47,497-C8, CP-55,940, CP-55,244)
3. *hibridni kanabinoidi* (strukturna kombinacija klasičnih i neklasičnih kanabinoida: AM-4030)
4. *aminoalkilindoli* koji su dalje podijeljeni na *naftoilindole* (JWH-018, JWH-073, JWH-398, JWH-015, JWH-122, JWH-210, JWH-081, JWH-200, WIN-55,212), *naftilmetilindole* i *benzoindole* (pravadoline, AM-694, RSC-4).
5. *eikozanoidi* (endokanabinoidi kao što je anadamid i njihovi sintetički analog metanandamid)
6. *ostali: diarilpirazoloni* (selektivni CB1 antagonisti-Rimonabant®), *naftilpiroli* (JWH-307) i *derivati naftoilnaftalena* [CRA-13 (naftalen-1-il-(4-pentiloksinaftalen-1-il)metanon)].

Komercijalni proizvodi sintetičkih kanabinoida prodaju se obično kao osvježivači prostora kao suhe mješavine biljnog podrijetla namijenjene pušenju, koji je više puta tretiran (najčešće špricanjem) otopinom takvih kanabinoida ili u obliku praha uz obveznu naznaku kako proizvod nije za ljudsku konzumaciju. Pakiranja koja sadrže takve tvari su obično živahnih boja i naziva kako bi privukla širu, a posebice mlađu populaciju. Neki od najpoznatijih „brandova“ proizvoda koji sadrže ove psihoaktivne tvari su „Spice Gold“, „Spice Silver“, „Spice Diamond“, „K2“, „Bliss“, „Black Mamba“, „Yucatan Fire“, „Monkees go Bananas“, itd. Sintetički kanabinoidi su najzastupljenija nova psihoaktivna droga, a slijede ih sintetički katinoni.

### 1.3.2. Sintetički katinoni

Katinoni predstavljaju skupinu psihoaktivnih spojeva koje je prirodno moguće naći u biljci kat (Khat) (*Catha edulis*). Katinon, najvažniji psihoaktivni sastojak u lišću te biljke se stoga može smatrati prototipom svih sintetičkih katinona. Katinoni, poznati još kao i benzoiletanamini su prirodni analozi amfetamina, a od njih se razlikuju po prisutnosti  $\beta$ -keto grupe na lancu fenetilamina pa su stoga blisko povezani sa skupinom istih (uključujući amfetamine i metamfetamine), ali s nižom potentnosti koja je uzrokovana time što  $\beta$ -keto skupina na fenetilaminu stvara polarniju molekulu koja onda teže prolazi krvno-moždanu barijeru. Katinoni se, poput derivata amfetamina, ponašaju kao simpatomimetici, odnosno stimulansi središnjeg živčanog sustava (12).

Sintetički katinoni se najčešće prodaju pakirani kao „kemikalije za istraživanje“, „biljna hrana“, „soli za kupanje“ ili „čistači stakla“ u obliku praha, tableta ili kapsula uz naznaku da ti proizvodi „nisu za ljudsku konzumaciju“ te se takvi najčešće konzumiraju oralno. Zbog svoje dobre topljivosti u vodi, mogu se i otopiti te konzumirati intravenski. Spojevi sintetičkih katinona koji se mogu pronaći u navedenim proizvodima su metilon, butilon, dimetilkatinon, 3 i 4-fluorometkatinon, etkatinon, etilon, mefedron, metedron, MDPV(metilendioksipirovaleron) te pirovaleron koji farmakološki imaju slične učinke kao i amfetamin (stimulansi središnjeg živčanog sustava) pa se nerijetko koriste kao „legalna“ alternativa metamfetaminu. Srodno amfetaminima, i oni imaju sposobnost modulacije serotonina što uzrokuje psihoaktivne učinke kao što su euforija, izražena komunikativnost i empatija, ubrzano disanje i rad srca, proširene zjenice i slično (13), no nema podataka o utjecaju na zdravlje prilikom dugotrajne konzumacije.

### 1.3.3. Ketamin

Ketamin je psihoaktivna tvar kemijskog naziva 2-klorfenil-2-metilamin-cikloheksanon, građom srodna fenilciklidin hidrokloridu (PCP). Upotrebljava se još od 1960-ih godina u klasičnoj medicini i veterini kao anestetik, no popularnost mu je u padu zbog posjedovanja psihoaktivnih svojstava. Ketamin djeluje izravno, ali i neizravno na brojne transmitsorske sustave kao što su kolinergički i opioidni, a inhibira ponovnu pohranu

noradrenalina, dopamina i serotonina. Primarno djeluje na receptore N-metil-D-aspartat (NMDA), inhibira djelovanje glutamata te dovodi do blokade protoka kalcija kroz kanale. Receptori NMDA imaju važnu ulogu u neurokemiji ponašanja i procesiranju senzornih informacija (14).

Vjerojatno je da se ketamin kao rekreativna droga u početku počeo primjenjivati kao dodatak tabletama ecstasyja, ali rastom njegove popularnosti sve se češće rabi samostalno. U prodaji je dostupan u tekućem stanju, pakiran u bočice volumena 10 ml (100 mg/ml). Tekući oblik se lako prevodi u prah, u obliku kojeg se najčešće prodaje pod „ecstasy“ pomiješan s vitaminom B12. Neka od uličnih imena iza kojih se krije ketamin su „K“, „special K“, „kit kat“, „tac“, „tic“, „cat valium“, „cat tranquilizer“, „vitamin K“, „ket“, „super K“, itd (15). Osim oralne primjene, može se konzumirati ušmrkavanjem, pušenjem u kombinaciji s marihuanom ili duhanom, intramuskularno te subkutano, ali najjače djeluje nakon intravenske primjene. "Rekreativna" doza je obično 50 do 100 mg.

Većina djelovanja ketamina je ovisna o dozi. On dovodi do stanja sedacije, nepokretnosti, analgezije i amnezije te do promjena u percepciji i kognitivnim funkcijama. Manje doze dovode do povišenog raspoloženja, derealizacije, depersonalizacije, vidnih halucinacija, ugodnih snova ili noćnih mora, poremećaja pažnje i pamćenja te poremećaja koordinacije. Zbog svojih fizikalnih (tekućina bez boje i mirisa, blago slankastog okusa) i psihoaktivnih svojstava, ketamin se često koristi i kao „droga za silovanje“. Ketamin posjeduje neurotoksična svojstva, a zbog svog simpatomimetičkog učinka dugotrajna konzumacija može dovesti do oštećenja miokarda koje se očituje palpitacijama, tahikardijom i hipertenzijom.

#### **1.3.4. Fenetilamini**

Fenetilamini su spojevi psihoaktivnog i stimulativnog djelovanja koji uključuju amfetamine, metamfetamine i MDMA, klasificirani kao ilegalne droge, stoga se na tržištu pojavljuje nova klasa fenetilamina odnosno supstituirani fenetilamini. Neki od njih su fenetilamini „2-C serije“ (2C-T-7, 2C-T-2), amfetamini „D serije“ (DOI, DOC), benzodifurani („Bromo-Dragonfly“, „2C-B-Fly“) i ostali (npr. p-metoksimetamfetamin

odnosno PMMA). Navedeni novi spojevi sa snažnim halucinogenim svojstvima nastali su jednostavnim modifikacijama molekule meskalina koji je prirodni fenetilamin. Također, 2-C serija fenetilamina razlikuje se od D serije samo u blagim modifikacijama kemijske strukture, a njihova psihoaktivna svojstva ostaju snažna i ovisna o dozi te variraju od blagih stimulativnih učinaka pri nižim dozama do halucinogenih i entaktogenih učinaka pri višim dozama. Istraživanjem je otkriveno da halucinogena svojstva spojeva imena „2C-B“ i „DOB“ premašuju one prirodnog porijekla. Naknadno je sintetiziran i široki raspon benzodifuranskih tvari. Benzodifurani kasnije poznati kao „FLY“ (tetrahidrobenzodifuranil) i „Dragonfly“ (benzodifuranilni aminoalkani) su veoma potentni halucinogeni, a „Bromo-Dragonfly“ je najčešća i najpotentnija tvar ove podskupine fenetilamina (16).

Prirodni i sintetski fenetilamini u tijelu se brzo metaboliziraju posredstvom monoaminoooksidaze do fenilacetatne kiseline koja je strukturno slična neurotransmiteru dopaminu. Fenetilamini mogu aktivirati mnoštvo receptora među kojima su najznačajniji serotoninski 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>2C</sub> receptori odakle potječu snažna psihoaktivna svojstva tih spojeva (17).

Fenetilamini su komercijalno dostupni u obliku tableta. FLY proizvodi se najčešće prodaju u obliku praha, a spojevi D-serije dostupni su na „blot papiriću“. Najčešći put unosa ovih droga je ingestijom. Često se kombiniraju s inhibitorima monoaminoooksidaze radi postizanja produljenog učinka.

Zasad ne postoje podaci o učincima po zdravlje nastalih dugotrajnim uživanjem fenetilamina.

### **1.3.5. Piperazini**

Aril-supstituirani piperazini su, po kemijskoj strukturi, dibazični amini koji uključuju podskupine benzilpiperazina i fenilpiperazina. Ipak, ne koriste se svi piperazini kao psihoaktivne droge s obzirom da neke od njih ne karakterizira posjedovanje psihoaktivnih svojstava.

Benzilpiperazini, čiji je predstavnik 1-benzilpiperazin (BZP), najčešće je konzumirana tvar s psihoaktivnim svojstvima slična onima amfetamina zbog čega je napušten kao potencijalni antidepresivni lijek. Benzilpiperazini također uključuju 1-benzil-4-metilpiperazin (MBZP) i 1,4-dibenzilpiperazin (DBZP) od kojih se oba koriste kao rekreativne droge, ali posjeduju slabije stimulativne učinke od BZP-a (18).

Fenilpiperazinima pripadaju 1-(3-klorfenil) piperazin (mCPP), 1-(4-fluorofenil) piperazin (pFPP) te 1-(3-trifluorometilfenil) piperazin (TFMPP) od kojih se svi navedeni koriste kao psihoaktivne droge. mCPP je najzastupljenija psihoaktivna droga te skupine.

Piperazini imaju stimulativno djelovanje slično onima amfetamina, metamfetamina i MDMA kao rezultat dopaminergičnih, noradrenergičnih te serotoninergičnih podražaja u mozgu. Bitno je napomenuti da sam TFMPP nema stimulativno djelovanje, nego se za postizanje takvih učinaka koristi u kombinaciji s BZP-om. Simultanim uzimanjem postižu se učinci slični onima koje uzrokuje MDMA, ali smanjene jačine. Neki od učinaka psihoaktivnih piperazina su povećanje energije i budnosti, euforija, poboljšanje raspoloženja, gubitak apetita, dehidracija, mučnina, konvulzije, halucinacije i tahikardija (19).

Piperazini se najčešće prodaju u obliku tableta kao „ecstasy“, ali nalaze se i u obliku kapsula ili praha koji se najčešće konzumiraju oralno, naravno, ne isključujući mogućnost konzumacije pušenjem ili ušmrkavanjem. Neki od generičkih imena psihoaktivnih piperazina su „*pep pills*“, „*social tonics*“ ili jednostavno „*party pills*“. Potonji naziv se uglavnom odnosi na BZP, a neka od ostalih uličnih imena pod kojima se krije ova droga uključuju „*Jax*“, „*A2*“, „*Benny Bear*“, „*Flying Angel*“, „*Legal E*“ ili „*Legal X*“ i „*Pep X*“, „*Pep Love*“ te „*Nemesis*“ (20).

### 1.3.6. Tvari biljnog podrijetla

U skupinu psihoaktivnih tvari biljnog podrijetla nove generacije spadaju Khat, Kratom i *Salvia divinorum*.

#### 1.3.6.1 Khat

Khat je naziv za biljku *Catha edulis* čiji svježi listovi posjeduju psihoaktivna svojstva. Iz tog razloga, glavni način konzumacije ove droge je žvakanje svježih listova biljke jer su u tom slučaju psihotropni učinci najjače izraženi. Na tržištu se biljka khat također pojavljuje i u osušenom obliku, a u novije vrijeme u smart-shopovima zamijećene su i alkoholne infuzije *Cathe edulis*.

Aktivni spoj biljke khat je S-katinon, poznat kao S-(-)-2-aminopropiofenon ili preciznije, S-(-)-2-amino-1-fenil-1-propanon čija farmakološka svojstva podsjećaju na svojstva amfetamina, a uključuju povećanu budnost, euforiju, hipertermiju, anoreksiju, povećanu frekvenciju disanja, ubrzan puls i povećan krvni tlak. Učinci na zdravlje nastali dugotrajnom konzumacijom ove droge podsjećaju također na one nastale dugotrajnom konzumacijom amfetamina i kokaina (21).

#### 1.3.6.2 Kratom

Kratom je naziv za biljni preparat dobiven iz biljke *Mitragyna speciosa* čiji su aktivni spojevi alkaloidi mitraginin, mitrafilin i 7-hidroksimitraginin. Mitraginin i 7-hidroksimitraginin su, uglavnom, odgovorni za psihoaktivne učinke kratoma, a djeluju kao puni agonisti  $\mu$ -opioidnih receptora. U nižim dozama djeluju stimulirajuće na središnji živčani sustav (povećavaju budnost), dok u višim dozama djeluju sedativno-narkotički.

Dijelovi biljke koji se konzumiraju najčešće su svježi listovi, uglavnom žvakanjem, a nešto rjeđe pušenjem. Listove je također moguće kupiti i sušene, mljevene u prah koji se najčešće uzima gutanjem (direktnom ingestijom) ili se od njega priprema čaj (22).

#### 1.3.6.3 *Salvia divinorum*

*Salvia divinorum* je biljka koja posjeduje najjaču prirodnu psihoaktivnu tvar - salvinorin A, čiji se učinci mogu usporediti onima LSD-a (dietilamida lizerginske kiseline) ili

DOB-a (2,5-dimetoksi-4-metilamfetamina). Salvinorin A je, za razliku od psilocibina, LSD-a i DOB-a koji se vezuju na serotoninске receptore, selektivni puni agonist  $\kappa$ -opioidnih receptora čije je vezivanje na receptore odgovorno za halucinogena svojstva te droge. Neki od učinaka koje uzrokuje salvinorin A su gubitak kontrole nad fizičkim pokretima, nekontroliran smijeh, živopisne, šarene, često bizarne kratkotrajne, no duboke halucinacije, a veće doze često uzrokuju ozbiljne psihotične poremećaje (23).

Salvia divinorum se najčešće konzumira sisanjem ili žvakanjem svježih listova ili se od njih pravi napitak. Moguće je kupiti i sušene listove biljke koji se onda konzumiraju pušenjem. Salvinorin A dostupan je i kao ekstrakt čiji se pare mogu inhalirati, no taj način konzumacije često dovodi do predoziranja jer doziranje nije precizno određeno pa je samim time i opasnije.

### **1.3.7. Ostale nove psihoaktivne droge**

Pod ostale nove psihoaktivne droge ubrajamo aminoindane, fenilciklidine te triptamine.

#### **1.3.7.1 Aminoindani**

1970. godine uočeni su bronhodilatacijski i analgezijski učinci aminoindana. Povedena istraživanja pokazala su kako aminoindani primarno djeluju na otpuštanje i ponovnu pohranu serotonina. Kasnije su se komercijalno razvijali kao nove sintetske droge koje oponašaju empatogene i entaktogene učinke također serotoninergičnog MDMA.

Predstavnik aminoindana, 2-aminoindan (2-AI) ciklički je analog amfetamina. Njegova bazična prstenasta struktura omogućuje izmjenu i nastanak raznih kemijskih tvari poput 5-jodo-2-aminoindana (5-IAI) i 5,6-metilenedioksi-2-aminoindana (MDAI) koji su, također, sintetske psihoaktivne tvari. Stimulativnog su djelovanja na središnji živčani sustav, uzrokuju euforično raspoloženje te s obzirom na slično djelovanje kao i MDMA koriste se kao njegova legalna zamjena. Na tržištu se pronalaze u obliku praha, tableta i kapsula. Sve aminoindanske droge relativno su benigne pri rekreativnoj konzumaciji, no podaci o dugotrajnim učincima na zdravlje veoma su oskudni (24).

### 1.3.7.2 Fenciklidini

1950-ih godina fenciklidin, odnosno 1-fenil-cikloheksilpiperidin (PCP) razvijao se kao intravenski anestetik, ali je njegova upotreba kao lijeka napuštena zbog nuspojava koje su uključivale halucinacije, psihoze, disforiju, dezorijentiranost te zbog posjedovanja neurotoksičnih svojstava (25).

PCP se ponaša kao stimulans i kao depresant zahvaljujući istodobnom djelovanju na više različitih mjesta u središnjem živčanom sustavu. Povećavanjem koncentracije, PCP se veže na NMDA (N-metil-D-aspartat) receptore, ponaša se kao inhibitor ponovne pohrane monoamina te stimulira  $\sigma$ -opioidne, nikotinske, muskarinske i GABA receptore (26). PCP je komercijalno dostupan kao „kemikalija za istraživanje“ najčešće u obliku bijelog kristalnog praha zbog čega je popularno nazvan „*angel dust*“ (*anđeoski prah*), no dolazi i u obliku tableta ili tekućine. Konzumira se najčešće oralno, iako se može injicirati venski ili supkutano te ušmrkavanjem.

### 1.3.7.3 Triptamini

Triptamin je monoaminski alkaloid i prototip skupine triptamina. Neki triptamini su prirodni neurotransmiteri, dok su većina psihoaktivni halucinogeni spojevi pronađeni u nekim biljkama, gljivama i životinjama. Pod prirodne triptamine ubrajamo serotonin, melatonin, bufotenin, 5-metoksi-N,N-dimetiltriptamin (5-MeO-DMT) i dimetiltriptamin (DMT).

Prirodni triptamini su najčešće komercijalno dostupni kao sušene gljive, dok su derivati dostupni u obliku kapsula, tableta, praha ili tekućine. Triptamini imaju halucinogen učinak, a najčešće se konzumiraju pušenjem, oralno, ušmrkavanjem, inhalacijom te injekcijom. Mijenjaju doživljaj realnosti, uzrokuju strah, tjeskobu te povećanje srčanog pulsa (27).

## 1.4. Svrha kvalitativne analize novih psihoaktivnih droga

S obzirom na porast rekreativnog uživanja droga, posebice među sve mlađom populacijom koja je spremnija na eksperimentiranje, treba naglasiti važnost testiranja



bioloških uzoraka na novosintetizirane spojeve kako bi se pratio te spriječio takav zabrinjavajuće rastući trend. Nadalje, o novosintetiziranim drogama se još uvijek premalo zna, a posljedice takvog propusta mogu biti veoma ozbiljne s obzirom na neistraženost farmakoloških osobina takvih spojeva koji nerijetko slučajnim predoziranje dovode do fatalnih posljedica. Zabrinjavajući je i podatak da su proizvodi koji sadrže nove psihoaktivne spojeve komercijalno veoma lako dostupni što predstavlja moguće najveću opasnost s obzirom na nepostojanje zakonskih ograničenja koji bi takve aktivnosti zabranili. Uz već poznate i ilegalne rekreativne droge, na tržište konstantno dopijevaju novi, potencijalno opasniji spojevi pa se podrazumijeva da bi i toksikološka analiza za detekciju takvih tvari trebala slijediti korak.

## **1.5. Metode kvalitativne analize novih psihoaktivnih spojeva**

Kao metode dokazivanja prisutnosti toksičnih tvari, a tako i psihoaktivnih tvari općenito, kromatografske metode su najčešće korištene. Za provedbu tih metoda, nužna je prethodna priprema uzoraka za kromatografsku analizu. Najčešće korištene metode pripreme uzoraka su metode ekstrakcije koje predstavljaju odvajanje analita iz uzorka (smjese tvari) kako bi se mogao što pouzdanije detektirati.

### **1.5.1. Vrste i načini ekstrakcije**

Svaka metoda analize u forenzičnoj toksikologiji započinje postupkom ekstrakcije. Postupak ekstrakcije provodimo radi lakše identifikacije analita iz smjese uzorka. Ekstrakcija je metoda odvajanja čistih tvari iz smjese koja se zasniva na principu različite topljivosti te tvari u različitim otapalima koja se ne miješaju. Ako su otapala u kontaktu, tvar prelazi u otapalo u kojem mu je topljivost veća. Bitno je naglasiti da bi otapalo moralo biti kemijski inertno u odnosu na analit, a analit bi trebao imati što bolju topljivost u otapalu koje bi trebalo biti što manje štetno ili zapaljivo, ali i jeftino. Gustoća otopine i otapala također bi se trebala razlikovati.

Dvije vrste ekstrakcija koje se zbog svoje jednostavnosti najčešće koriste za pripremu uzoraka za analizu su:

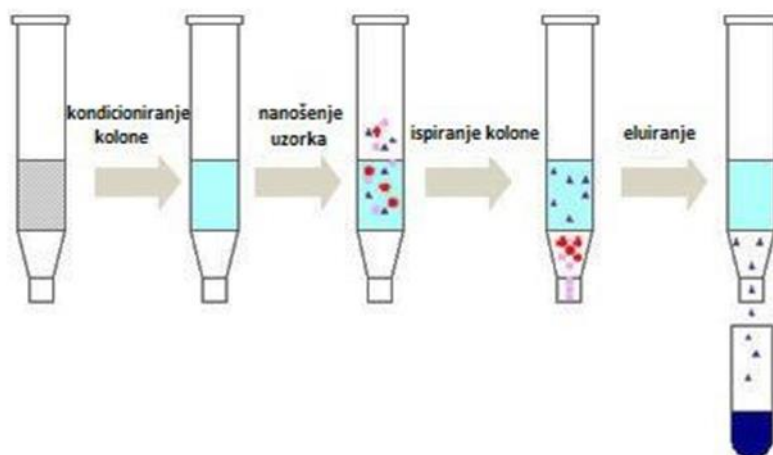
- a) Ekstrakcija čvrsto – tekuće odnosno ekstrakcija čvrstom fazom (engl. *solid phase extraction*, **SPE**)
- b) Ekstrakcija tekuće – tekuće (engl. *liquid – liquid extraction*, **LLE**)

#### 1.5.1.1. Ekstrakcija čvrsto – tekuće, ekstrakcija čvrstom fazom (engl. *solid phase extraction*, **SPE**)

Ekstrakcija čvrsto – tekuće je jedna od najprimjenjivanih tehnika pripreme uzorka za daljnju instrumentalnu analizu zbog svoje brzine, selektivnosti i učinkovitosti. Postupak se temelji na afinitetu vezanja analita za čvrsti nosač koji je veći u odnosu na afinitet vezanja analita za otapalo. Analit se stoga mora dobro otapati u odabranom otapalu te biti jačeg afiniteta prema sorbentu u koloni za razliku od otapala kako bi se mogao zadržati na nosaču. Uzorak u koloni prolazi kroz sloj nosača, analit se veže na njegovu površinu dok ostali sastojci smjese slobodno prolaze.

Ekstrakciju čvrstom fazom možemo razdvojiti na 4 koraka (Slika 1):

1. Kondicioniranje kolone, odnosno tretiranje sorbenta otapalom koji će se koristiti za eluiranje analita iz uzorka.
2. Propuštanje uzorka kroz čvrstu fazu kolone primjenom laganog vakuuma i vezivanje analita za površinu sorbenta.
3. Ispiranje kolone otapalom koje uklanja interferirajuće čimbenike dok analit i dalje ostaje vezan na nosač.
4. Eluiranje analita prikladnim selektivnim otapalom kako bi se analit u cijelosti eluirao, ali bez interferirajućih čimbenika.



Slika 1. Shema ekstrakcije čvrstom fazom (engl. *solid phase extraction*, SPE)

#### 1.5.1.2. Ekstrakcija tekuće – tekuće (engl. liquid – liquid extraction, **LLE**)

Ekstrakcija tekuće – tekuće je postupak razdvajanja otopljene tvari na temelju topljivosti u različitim otapalima koja se međusobno ne miješaju. Uobičajena je separacijska tehnika za velik broj analita zbog svoje brzine i jednostavnosti. Tehnika obično koristi vodenu otopinu i hidrofobno organsko otapalo u kojima se otopljena tvar razdvaja na temelju polarnosti. Otapalo mora dobro ekstrahirati analit, a da pritom ostane kemijski inertno prema matrici uzorka. Potrebno je i optimalno podesiti pH vrijednost otopina korištenjem odgovarajućih pufera kako se one ne bi miješale odnosno kako bi se uspostavila bifaznost sustava. Otopljena tvar će se u takvom sustavu razdvajati na temelju pH vrijednosti (28).

#### 1.5.2. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (GC – MS)

Za identifikaciju novih psihoaktivnih droga najčešće korištena tehnika, ujedno i zlatni standard u forenzičkoj toksikologiji, predstavlja plinska kromatografija sa masenom spektrometrijom (GC/MS). Vezana tehnika GC/MS omogućuje separaciju smjese molekula na pojedine komponente pomoću plinskog kromatografa, nakon čega slijedi individualna identifikacija masenim spektrometrom (Slika 2).

Uzorak za plinsku kromatografiju prevodi se u paru te se u tom obliku injektira na početak kolone kroz koju putuje nošen plinom nosiocem, koji mora biti kemijski inertan

kako ne bi interferirao s uzorkom (najčešće korišteni plinovi su helij, dušik, argon i ugljični dioksid). Uzorak se potom razdvaja na komponente koje kolonom putuju različitom brzinom te naposljetku dolaze do detektora (29).

Detekcija analita iz uzorka na kromatografu očitava se kao pik odnosno vršak (engl. *peak*) na grafičkom prikazu detekcije u određenom retencijskom vremenu odnosno vremenu zadržavanja – kromatogramu. Površina ispod pika proporcionalna je količini analita u uzorku. Podaci prikupljeni navedenom metodom uspoređuju se sa standardima i podacima iz knjižnica spektara masa (engl. *mass spectral libraries*) čime se potvrđuje odnosno isključuje prisutnost određene tvari u uzorku.



Slika 2. GC/MS plinski kromatograf sa spektrometrom masa proizvođača Shimadzu (Dostupno na: <https://www.chem.purdue.edu/ric/instrumentation/gcms.php>)

### 1.5.3. Ostale metode analize

Analizu novih psihoaktivnih tvari također je moguće provesti i upotrebom tekućinske kromatografije s masenom spektrometrijom (LC-MS). Ostale analitičke tehnike koje se mogu koristiti su tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), Fourierova

transformirajuća infracrvena spektroskopija (FTIR), ali i magnetska rezonanca (NMR) za identifikaciju i rasvjetljavanje kemijske strukture određene tvari.

Svaka od navedenih navedene metoda ima svoja ograničenja, tako plinskom kromatografijom s masenom spektrometrijom nije uvijek moguće razlikovati određene sintetičke kanabinoide od JWH skupine kanabinoida, a do raznih poteškoća prilikom identifikacije aktivnog sastojka neke nove psihoaktivne droge dolazi i zbog prisutnosti izomera i mogućih sličnosti nekih spojeva iz iste skupine droga (30).

## **2. CILJEVI**

Ciljevi ovoga rada su opisati optimalnu metodu detekcije i identifikacije novih psihoaktivnih droga u uzorku krvnog seruma i urina, te pomoću nasumično odabranih uzoraka više pacijenata uočiti trend u konzumiranju istih.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1. Popis pribora i instrumenata**

Pribor i instrumenti korišteni za analizu su sustav za ekstrakciju tekuće – tekuće, staklene epruvete s navojem i čepom, kolone za ekstrakciju čvrsto - tekuće, staklene epruvete, automatske pipete s nastavcima u rasponu pipetiranja od 0,01 do 5 ml, centrifuga, staklene epruvetice za GC – MS analizu i plinski kromatograf s masenim detektorom.

#### **3.2. Izbor uzoraka za analizu**

Za potrebe ovoga rada, kao uzorci za kvalitativnu analizu novih psihoaktivnih tvari, korišteni su urin i krvni serum. Urin je uzorak izbora za većinu toksikoloških analiza zbog toga što se lako prikuplja, te daje pouzdane rezultate praktičnim, provjerenim i ekonomičnim testovima.

Za samo provođenje eksperimentalnog postupka, na početku je bilo potrebno izvršiti ekstrakciju uzoraka, a korištene metode bile su ekstrakcija tekuće – tekuće, pomoću Toxi A sustava, i ekstrakcija čvrsto-tekuće, pomoću komercijalnih kolonica za ekstrakciju. Postupak ekstrakcije proveden je po protokolu kemijsko – toksikološkog laboratorija Zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split.

Za analizu labilnih spojeva te za poboljšanje dokazivosti određenih spojeva u plinskoj kromatografiji ponekad se javlja potreba za derivatizacijom analita, a postupak označava prevođenje masnih kiselina u hlapljive trimetilsililne derivate uz pomoć određenih kemijskih reagensa poput BSA, BSTFA, DMDCS, TBDMSIM, i slično (31).

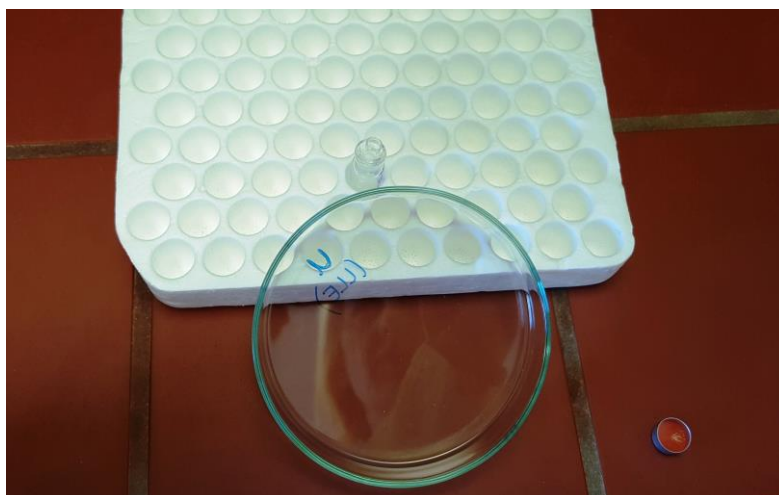
### 3.3. Metode ekstrakcije

#### 3.3.1. Ekstrakcija tekuće – tekuće (LLE)

Pribor: Staklene epruvete s navojem i čepom za centrifugiranje, staklene epruvete, automatske pipete s nastavcima u rasponu pipetiranja od 0,01 do 5 ml, rotor, centrifuga

Kemikalije: natrij volframat dihidrat, etil acetat (p.a. čistoće), diklormetan odnosno metilendiklorid (p.a. čistoće), BSTFA (N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamid)

Postupak: U staklene tube s navojem i čepom za centrifugiranje zapremnine 15 ml odvučeno je 1,8 g natrij volframata te je dodano 2 ml smjese diklormetan-etilacetat u omjeru 3:1, a zatim je smjesa snažno promućkana. Otpipetirano je 2 ml uzorka koji je prethodno puferiran s 4 ml fosfatnog pufera (pH=6,69). Epruveta je začepljena i postavljena na rotor za ekstrakciju 10 minuta na 50 rpm (okretaja u minuti, engl. *rotates per minute*). Uslijedilo je centrifugiranje uzorka 10 minuta na 2600 rpm. Gornji organski sloj, 2 ml, prenesen je u Petrijevu zdjelicu i u digestoru, u struji zraka, uparen do suha (slika 3.). Ekstrakt je zatim otopljen u kloroformu do ukupnog volumena 50  $\mu$ l i prenesen u staklenu kivetu za analizu plinskom kromatografijom – masenom sprektrometrijom (GC/MS).



Slika 3. Prikaz postupka uparavanja uzorka u digestoru pri ekstrakciji tekuće – tekuće



### 3.3.2. Ekstrakcija čvrstom fazom

Postupak: Na kolonu za ekstrakciju (Supelclean LC-18, SPE, Supelco) nanoseno je 1 ml uzorka. Prije propuštanja uzorka preko kolone, vakuum sustavom za ekstrakciju čvrsto- tekuće (slika 4.), uzorci su natapali kolonu 5 minuta, nakon čega se, uz niski vakuum, propuštaju kroz kolone (~5 inča žive). Kolona je isprana koristeći 1 ml destilirane vode, pa osušena pod visokim vakuumom (~10 inča žive). Analiti su eluirani koristeći 1 ml metanola. Eluat je sakupljen u čistu epruvetu te je evaporiran u digestoru u struji dušika do suha. Dobiveni ekstrakti otopljeni su koristeći 30  $\mu$ l kloroforma, nakon čega su uzorci prebačeni u staklene tubice za GC/MS analizu.



Slika 4. Uređaj za ekstrakciju čvrstom fazom sa SPE kolonom za ekstrakciju

### 3.4. Instrumentalna analiza uzorka

Nakon pripreme uzorka ekstrakcijom, isti su analizirani metodom plinske kromatografije – masene spektrometrije (GC/MS) u kemijsko-toksikološkom laboratoriju Zavoda za sudsku medicinu KBC-a Split.

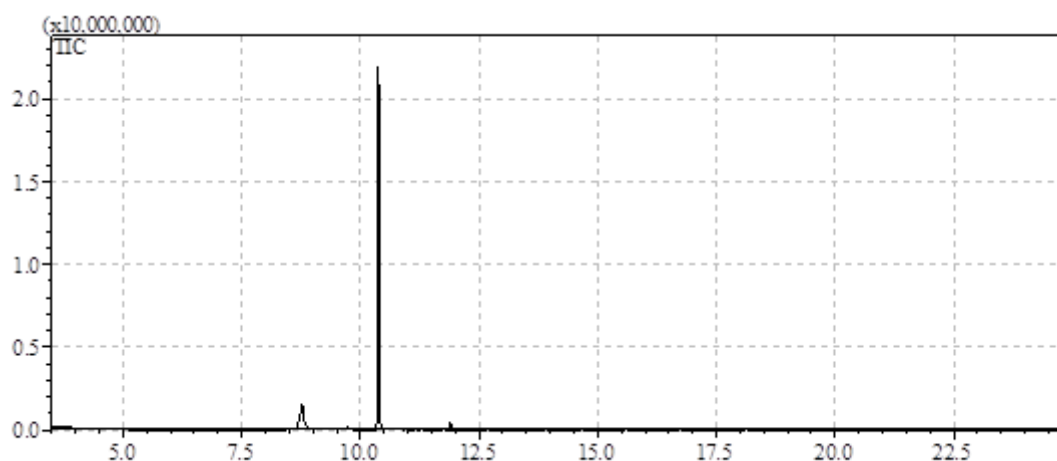
## 4. REZULTATI

U laboratoriju za kemijsko-toksikološke analize, Kliničkog odjela za sudsku medicinu, Zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split, napravljena je GC – MS analiza i identifikacija novih psihoaktivnih tvari iz uzoraka urina i seruma dvaju pacijenata kao i analiza referentnih standarda. Pripremljeni uzorci urina za analizu (opisano u poglavlju 3.3 i 3.4) zajedno s uzorcima seruma i referentnih standarda analizirani GC-MS metodom. Rezultati su analizirani u TIC modu (engl. *Total Ion Chromatogram*).

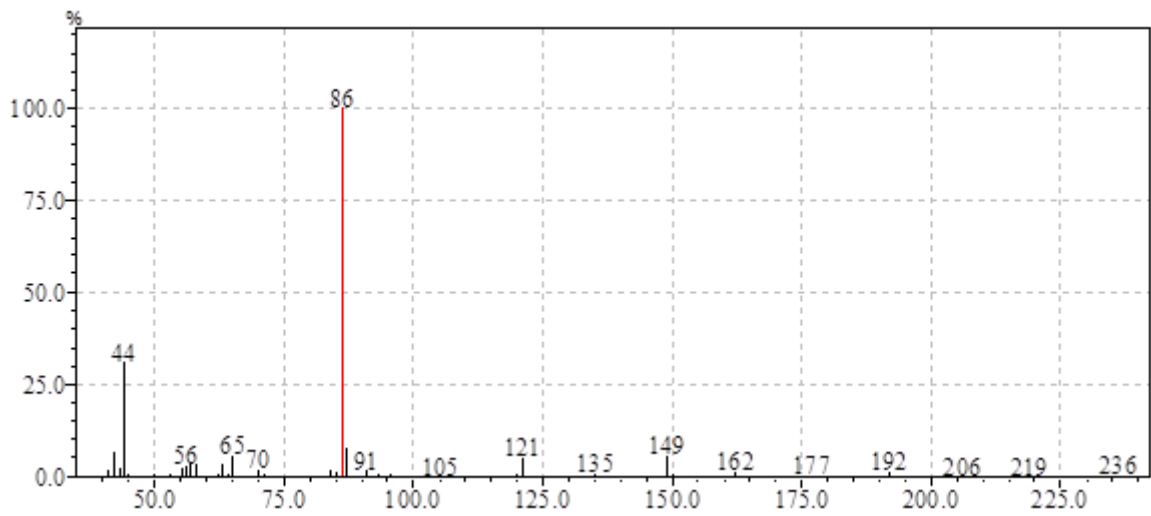
### 4.1. Standardi

Rezultati su prikazani kromatogramima dobivenim nakon GC-MS analize. Na osi x prikazano je vrijeme (min) koje predstavlja vrijeme zadržavanja analita u koloni, dok je na osi y prikazan intenzitet signala koji je proporcionalan koncentraciji uzorka. Na slikama koje prikazuju spektar masa na osi x prikazane su veličine masa (odnos mase i naboja) dok os y prikazuje njihov intenzitet.

- Pentilon (sintetički katinon)

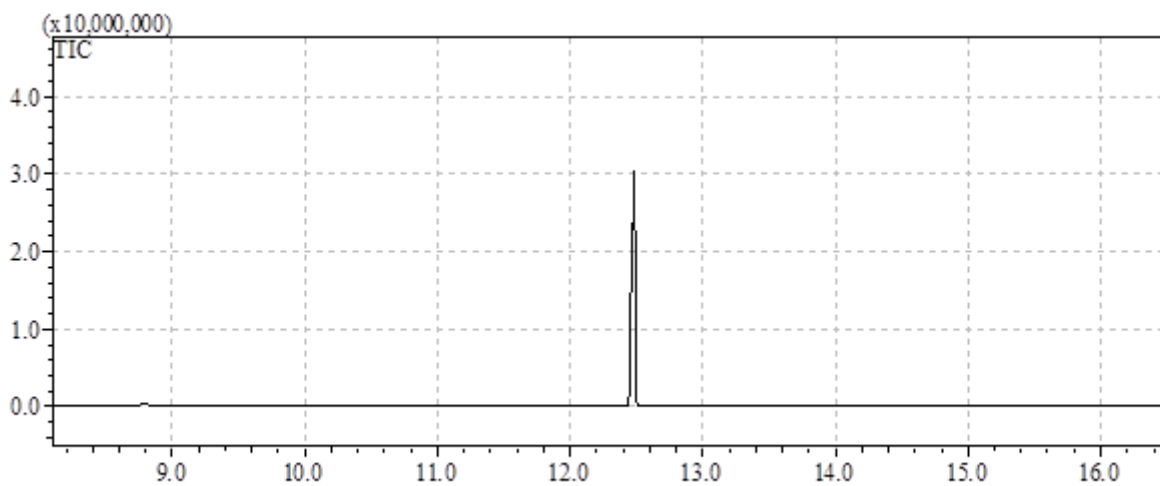


Slika 5. Ukupni ionski kromatogram referentnog standarda pentilona. Iz kromatograma se uočava da je vrijeme zadržavanja analita u koloni, odnosno vrijeme dolaska na detektor RT (engl. *retention time*) oko 10,8 min.

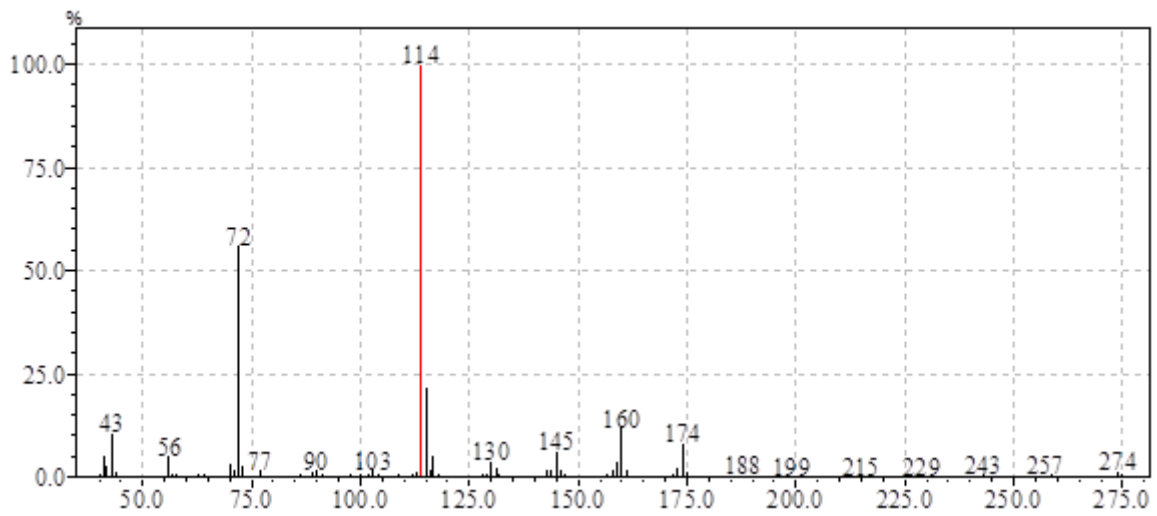


Slika 6. Prikaz spektra masa pentilona. (Karakteristične mase, poredane po intenzitetu, su: 86; 44; 65; 149 121)

- 5-metoksi-diizopropil-triptamin (5-metoksi-DiPT)

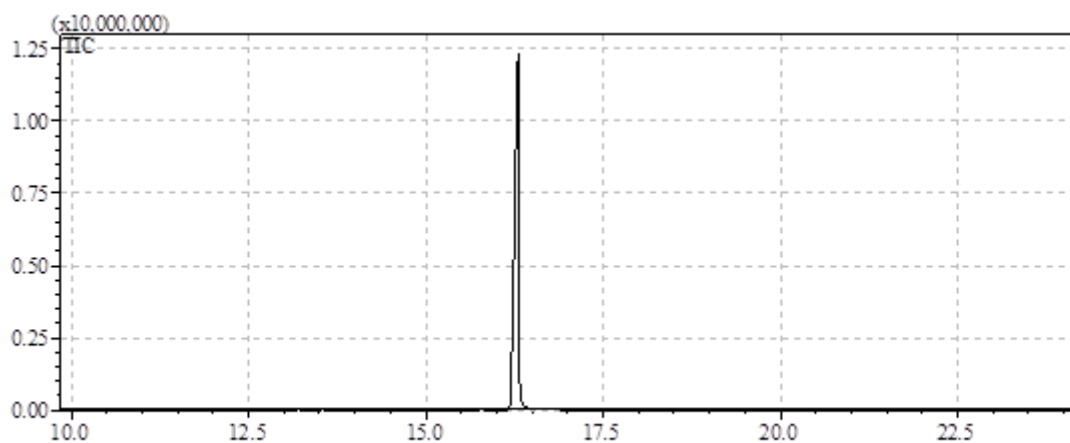


Slika 7. Prikaz karakterističnog signala standarda 5-metoksi-DiPT-a. Iz kromatograma se uočava da je vrijeme zadržavanja analita u koloni, odnosno vrijeme dolaska na detektor RT (engl. *retention time*) oko 12,4 min.

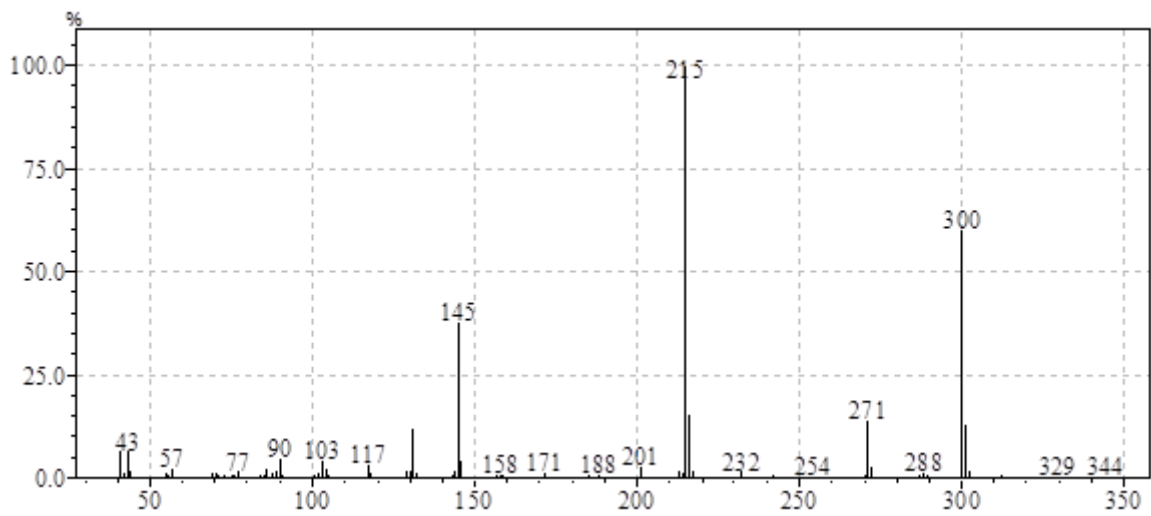


Slika 8. Prikaz spektra masa 5-metoksi-DiPT-a. (Karakteristične mase, poredane po intenzitetu, su: 114; 72; 160; 43; 174)

- ADB PINACA (sintetički kanabinoid)

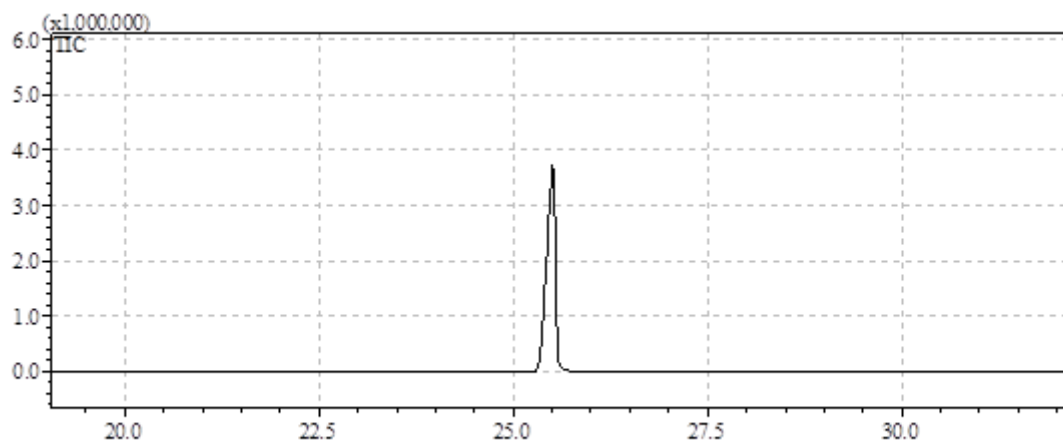


Slika 9. Prikaz karakterističnog signala standarda ABD – PINACE. RT (engl. *retention time*) je oko 16,2 min.

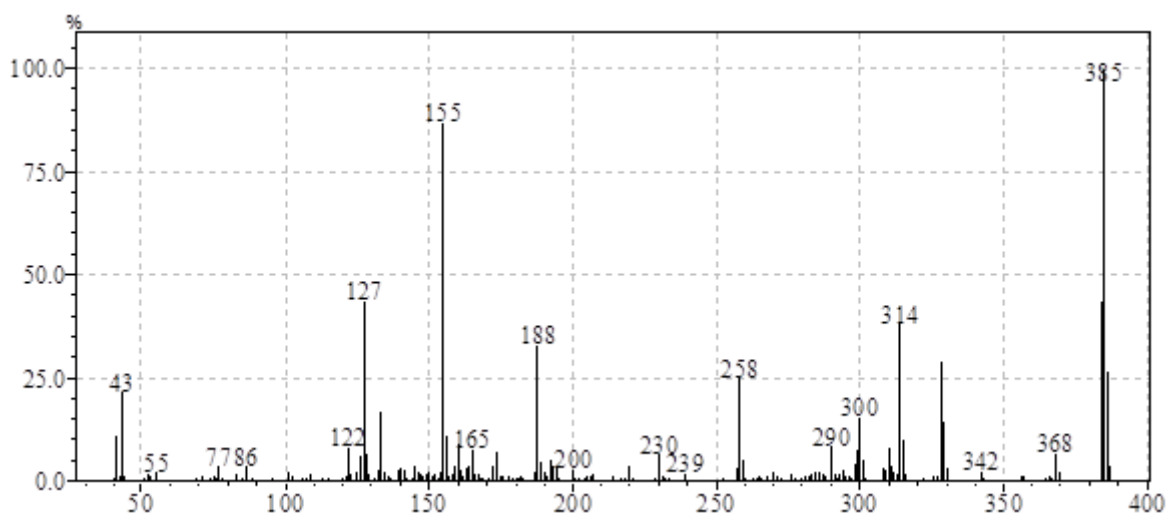


Slika 10. Prikaz spektra masa ADB – PINACE. (Karakteristične mase, poredane po intenzitetu, su 215; 300; 145; 271)

- JWH – 307 (sintetički kanabinoid)



Slika 11. Prikaz karakterističnog signala JWH-307. RT (engl. *retention time*) je oko 25,4 min

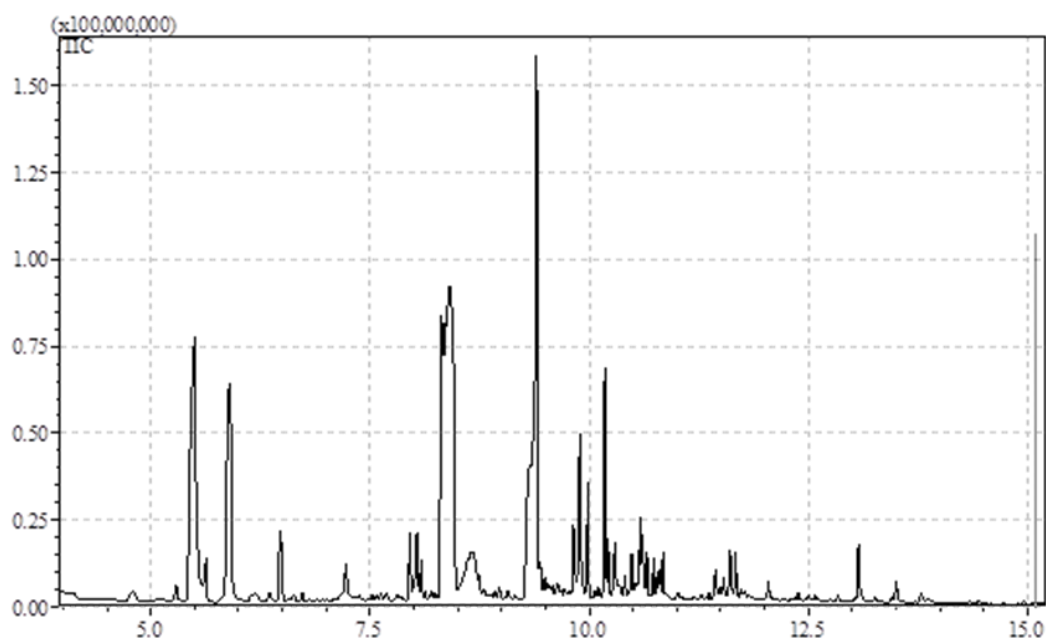


Slika 12. Prikaz spektra masa JWH-307 (Karakteristične mase, poredane po intenzitetu, su 385; 155; 127; 314; 188)

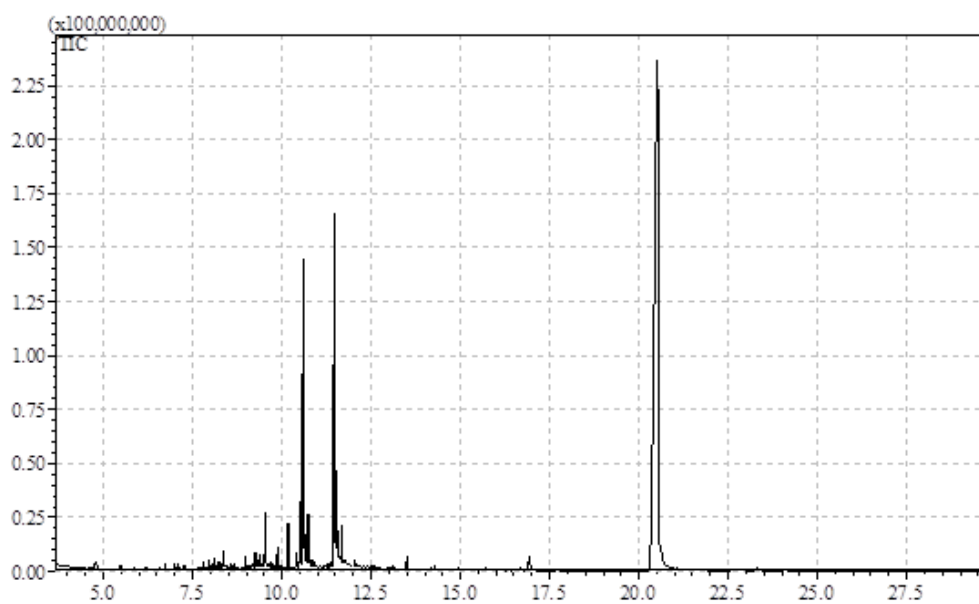
## 4.2. Uzorci

Za potrebe rada analizirana su ukupno četiri uzorka od dvaju pacijenata (po dva uzorka svakog pacijenta). Sva četiri uzorka bila su pozitivna na nove psihoaktivne tvari.

- Pacijent 1



Slika 13. Ukupni ionski kromatogram uzorka urina pacijenta 1 pozitivnog na nove psihoaktivne droge

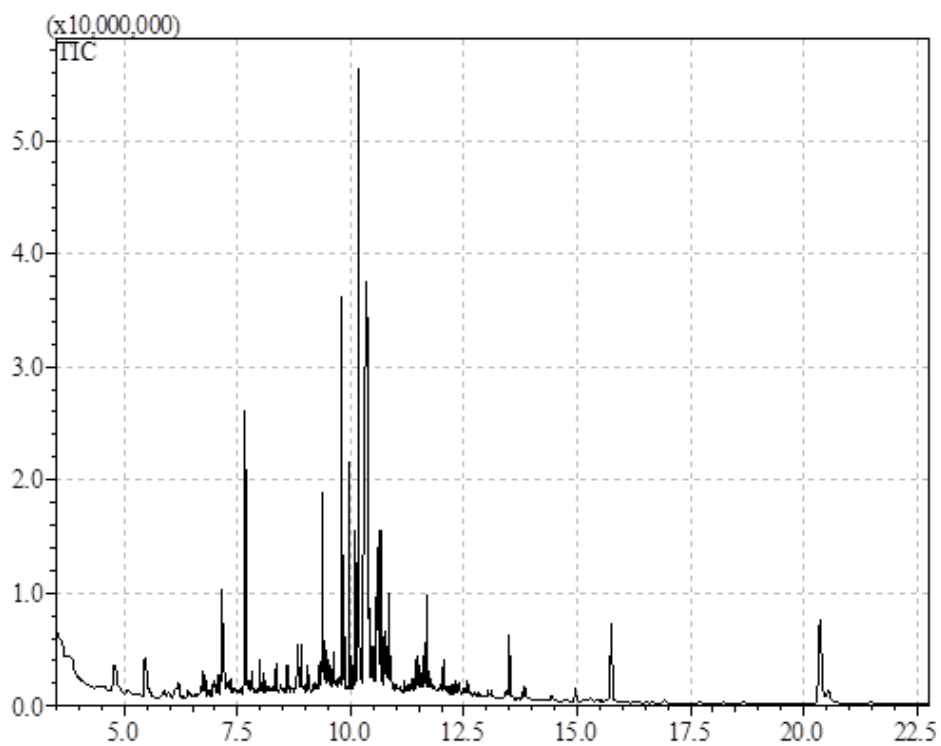


Slika

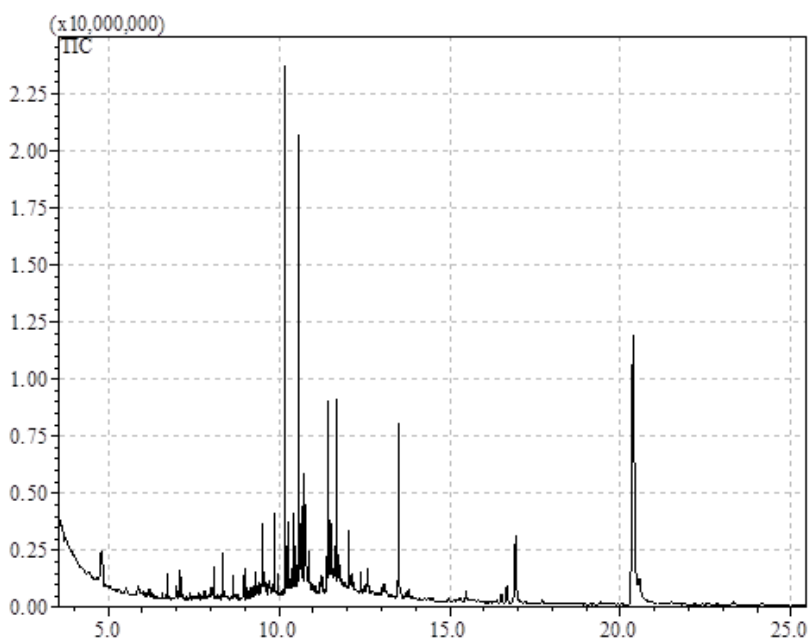
14. Ukupni ionski kromatogram uzorka seruma pacijenta 1 pozitivnog na nove psihoaktivne droge



- Pacijent 2



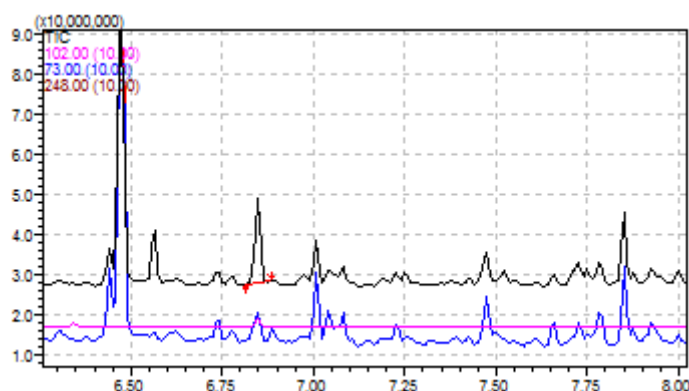
Slika 15. Ukupni ionski kromatogram uzorka urina pacijenta 2 pozitivnog na nove psihoaktivne droge



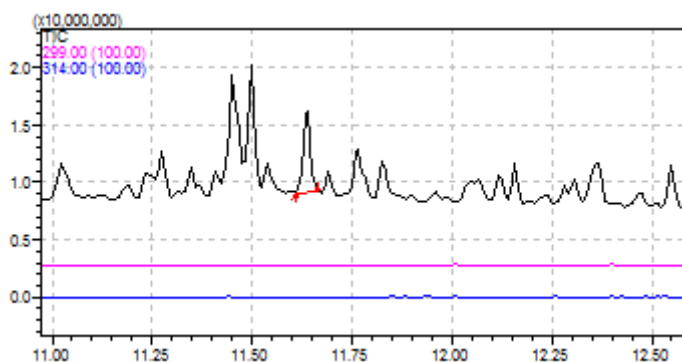
Slika 16. Ukupni ionski kromatogram uzorka seruma pacijenta 2 pozitivnog na nove psihoaktivne droge

U svrhu praćenja trendova uživanja novih psihoaktivnih droga prikupljeni su i podaci s ULTRA Music festivala, festivala elektroničke glazbe koji se održavao u Splitu od 10. do 12. srpnja 2015. godine. Nasumično su odabrani rezultati GC-MS analize uzoraka seruma i urina troje hospitaliziranih pacijenata Dvoje pacijenata imalo je pozitivan nalaz psihoaktivnih tvari u urinu i u serumu.

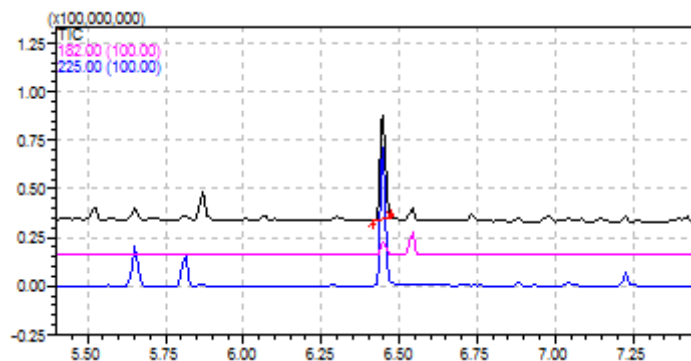
- Pacijent 1



Slika 17. Ukupni ionski kromatogram derivatiziranog uzorka seruma pacijenta 1 pozitivnog na NPS. Na retencijskom vremenu RT = 6,850 min detektiran je N-butil-3,4-(difluorometilen)-dioksiamfetamin.

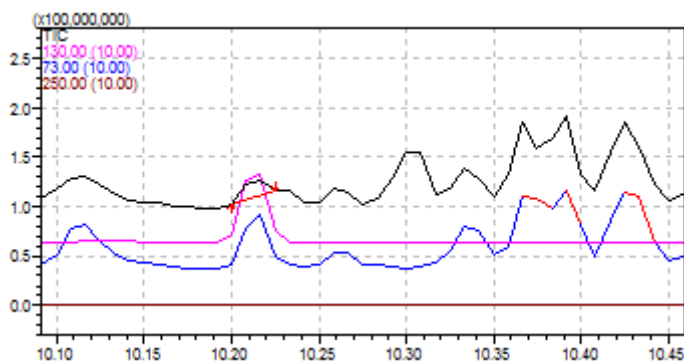


Slika 18. Ukupni ionski kromatogram uzorka urina pacijenta 1 pozitivnog na NPS. Na retencijskom vremenu RT = 11,633 min detektiran je N-benzilpiperazin.



Slika 19. Ukupni ionski kromatogram derivatiziranog uzorka urina pacijenta 1 pozitivnog na NPS. Na retencijskom vremenu  $RT = 6,442$  min detektiran je 2,4,5-trimetoksiamfetamin.

- Pacijent 2



Slika 20. Ukupni ionski kromatogram derivatiziranog uzorka urina pacijenta 2 pozitivnog na NPS. Na retencijskom vremenu  $RT = 10,217$  min detektiran je metamfetamin.

## 5. RASPRAVA

Na široko tržište ilegalnih droga svakodnevno pristiže veliki broj novih psihoaktivnih tvari. Europska agencija za praćenje droga i ovisnosti o drogama objavila je 2014. godine broj od 101 nove tvari, a 2015. godine zabilježena je pojava 98 novih psihoaktivnih tvari, čime se broj tvari koje se prate povećao sa 450 (2013.) na više od 560, od kojih je 380, odnosno 70 % otkriveno u zadnjih 5 godina (32).

Psihoaktivne tvari, općenito, nose određene opasnosti i rizike pri uživanju, a posebno ugroženu skupinu čine mlađe znatizeljne osobe sklone eksperimentiranju što čak i jednokratnom konzumacijom neke od novih psihoaktivnih tvari često dovede do predoziranja ili, u konačnici, do smrtnog ishoda.

Zabrinjava i podatak o izuzetnoj komercijalnoj dostupnosti takvih tvari na internetu (no ne treba zanemariti ni tzv. *smart-shopove*) koji opetovano pogoduju mlađoj populaciji, a još jedan problem ovog područja predstavlja sporost zakonske regulacije prometa novih psihoaktivnih tvari.

Zbog navedenih razloga izuzetno je teško pratiti trend konzumacije NPS-a, jer većina rekreativnih konzumiranja prođe neopaženo i bez posljedica, a mladi u upitnicima rijetko priznaju konzumaciju takvih proizvoda. Stoga, u praćenju prometa novih psihoaktivnih tvari najviše se oslanjamo na podatke prikupljene u istraživanjima općeg stanovništva koji pružaju uvid u prevalenciju rekreacijske uporabe droga. Rezultati dobiveni takvim istraživanjima nadopunjuju se analizama ostataka droga u komunalnim otpadnim vodama na razini zajednice, koje se provode u gradovima diljem Europe (33).

Zbog ograničenog broja uzoraka na temelju dobivenih rezultata eksperimentalnog dijela ovoga rada, nemoguće je točno definirati prevalenciju konzumacije novih psihoaktivnih tvari, no oni nam mogu pomoći u uočavanju nekih obrazaca i trendova konzumacije. Primjerice, iz rezultata analize uzoraka dobivenih od pacijenata koji su bili sudionici ULTRA Music festivala elektroničke glazbe u Splitu 2015. godine možemo uočiti kako je određeni dio populacije koji posjećuje takve društvene događaje ipak pod utjecajem psihoaktivnih droga, uglavnom laboratorijski sintetiziranih.

Za analizu bioloških uzoraka pacijenata u toksikološkom laboratoriju zlatni standard među analitičkim metodama i dalje ostaje plinska kromatografija s masenom spektrometrijom jer za razliku od drugih metoda koje detektiraju prisutnost odnosno odsutnost ispitivane tvari, ona omogućava separaciju, identifikaciju i kvantifikaciju analita. Plinska kromatografija s masenom spektrometrijom je osjetljiva, točna i precizna metoda, a preciznost u ovom slučaju definirana je trećom decimalom. Nadalje, granične (engl. cut-off) vrijednosti koje razlikuju pozitivne od negativnih rezultata kromatografske analize za većinu metabolita psihoaktivnih droga su već određeni i poznati (32). Toksikološki nalaz urina se interpretira tako da rezultati iznad graničnih vrijednosti znače pozitivan nalaz, a rezultat ispod graničnih vrijednosti negativan.

Nedostaci metode su najčešće duže trajanje same analize zbog kompleksne i dugotrajne pripreme uzoraka ekstrakcijom i derivatizacijom te visoka cijena potrebne opreme za izvršenje analize i održavanja. Treba napomenuti da je za optimizaciju metode kvalitativne analize novih psihoaktivnih tvari i neophodno neprekidno nadopunjavanje knjižnica spektara masa (engl. *mass spectral libraries*) što nerijetko ne sustiže brzinu pristizanja novih psihoaktivnih tvari na tržište droga.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Za kvalitativnu analizu novih psihoaktivnih tvari kao metoda izbora i zlatni standard, zbog svoje točnosti, osjetljivosti i preciznosti, ostaje plinska kromatografija, kao i tekućinska kromatografija s masenom spektrometrijom.
2. Najčešće korišteni biološki uzorci pacijenata su krvni serum i urin zbog standardiziranosti metode i jednostavnosti uzorkovanja te poznatih i definiranih vrijednosti metabolita droga u tim uzorcima.
3. Zbog neprekidno rastućeg broja novosintetiziranih psihoaktivnih tvari, toksikološki laboratoriji bi neprestano trebali raditi na nadopunjavanju knjižnice spektara masa novim psihoaktivnim spojevima.

## 7. LITERATURA

1. WHO, Leksikon termina alkohola i droge, Geneva 1994, dostupno na internetu: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39461/1/9241544686\\_engl.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39461/1/9241544686_engl.pdf), stranica 4
2. Ovisnost, definicija [Internet] dostupno na: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=45978>
3. Psihoaktivne tvari, definicija [Internet] dostupno na: [http://www.who.int/substance\\_abuse/terminology/psychoactive\\_substances/en/](http://www.who.int/substance_abuse/terminology/psychoactive_substances/en/)
4. Nikša Dubreta, Fakultet strojarstva i brodogradnje u Zagrebu, Konoplja – sociološki aspekti uzgoja i upotrebe, 2006.
5. Peyote [Internet] dostupno na <https://en.wikipedia.org/wiki/Peyote>
6. Meskalin [Internet] <https://hr.wikipedia.org/wiki/Meskalin>
7. Jamie P. Smith, Oliver B. Sutcliffe i Craig E. Banks, An overview of recent developments in the analytical detection of new psychoactive substances (NPSs), 2015
8. Europski centar za praćenje droga i ovisnosti o drogama, Europsko izvješće o drogama (Trendovi i razvoj), 2014.
9. Biljana Stalović, Snežana Đorđević, Sintetski kanabinoidi – nove psihoaktivne supstance, 2012.
10. Howlett, A.C. i sur., International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*, 2002. 54(2), str. 161-202.
11. Thakur, G.A., et al., CB1 cannabinoid receptor ligands. *Mini Rev Med Chem*, 2005, 5(7), str. 631 - 638
12. United Nations Office on Drugs and Crime, The challenge of new psychoactive substances, 2013, str. 50
13. Mefedron [Internet] dostupno na: [http://nijd.uredzadroge.hr/wp-content/uploads/2011/03/EWS\\_letak\\_2011.pdf](http://nijd.uredzadroge.hr/wp-content/uploads/2011/03/EWS_letak_2011.pdf)
14. Marko Martinac, Joško Markić, Dalibor Karlović, Julije Meštrović, Prepoznavanje i liječenje trovanja sintetičkim („klupskim“) drogama, 2007.
15. United Nations Office on Drugs and Crime, The challenge of new psychoactive substances, 2013, str. 8

16. United Nations Office on Drugs and Crime, The challenge of new psychoactive substances, 2013, str. 8 – 11
17. Thomas G. Brock, Ph.D, Today's Designer Drugs and Recreational Drugs of Abuse, 2012
18. Piperazini [Internet] dostupno na:  
<http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/bzp>
19. Piperazines (Health Effects) [Internet] dostupno na:  
<https://www.drugfoundation.org.nz/party-pills/health-effects>
20. United Nations Office on Drugs and Crime, The challenge of new psychoactive substances, 2013, str. 12
21. Khat [Internet] dostupno na: <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/khat>
22. Kratom [Internet] dostupno na: <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/kratom>
23. Salvia divinorum [Internet] dostupno na:  
<http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/salvia>
24. United Nations Office on Drugs and Crime, The challenge of new psychoactive substances, 2013, str. 15 – 16
25. Patrick L West, MD, Phencyclidine Toxicity, 2015
26. Tareg Bey, MD, Anar Patel, MD, Phencyclidine Intoxication and Adverse Effects: A Clinical and Pharmacological Review of an Illicit Drug, 2007.
27. Triptamini [Internet] dostupno na:  
<https://www.unodc.org/LSS/SubstanceGroup/Details/68c027b6-0ed9-4c07-a139-7f1ca7ffce84>
28. Davorka Sutlović i suradnici, Osnove forenzične toksikologije, Split 2011.
29. Elena Stashenko, Jairo René Martínez, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, 2014.
30. United Nations Office on Drugs and Crime, The challenge of new psychoactive substances, 2013, str. 53 – 55
31. Brošura Sigma – Aldrich: Derivatization Reagents For Selective Response and Detection in Complex Matrices, 2011



32. Europski centar za praćenje droga i ovisnosti o drogama, Europsko izvješće o drogama (Trendovi i razvoj), str. 30, 2016.
33. Europski centar za praćenje droga i ovisnosti o drogama, Europsko izvješće o drogama (Trendovi i razvoj), str. 37, 2016.
34. Lars Kroener, Frank Musshoff, Burkhard Madea, Evaluation of Immunochemical Drug Screenings of Whole Blood Samples. A Retrospective Optimization of Cutoff Levels after Confirmation. Analysis on GC-MS and HPLC-DAD, 2003

## 8. SAŽETCI

### 8.1. Sažetak

**Uvod:** Psihoaktivne droge su tvari koje imaju izrazito snažan psihotropni učinak i kao takve se od davnina koriste kao lijek ili češće u svrhu postizanja određenog osjećaja ili stanja svijesti. U novije vrijeme zbog globalizacije i općeg tehnološkog napretka, suočavamo se sa sve većim brojem novih psihoaktivnih tvari najčešće sintetiziranih u laboratoriju. Zbog neistraženosti farmakoloških svojstava, takve tvari predstavljaju ozbiljnu opasnost po ljudsko zdravlje posebice među mlađom populacijom sklonijom eksperimentiranju.

**Cilj:** Cilj ovoga rada je opisati optimalne metode detekcije i identifikacije novih psihoaktivnih droga u biološkim uzorcima pacijenata i uočiti trend u njihovom konzumiranju.

**Materijali i metode:** Materijali korišteni u eksperimentalnom dijelu ovoga rada bili su uzorci krvnih seruma i urina nasumično odabranih pacijenata koji su metodama ekstrakcije i derivatizacije pripremljeni za toksikološku analizu. Korištena tehnika za kvalitativnu toksikološku analize, ujedno i zlatni standard bila je plinska kromatografija s masenom spektrometrijom zbog svoje točnosti, specifičnosti, osjetljivosti i preciznosti.

**Zaključak:** Urin i krvni serum pogodni su biološki materijal za kvalitativnu analizu novih psihoaktivnih tvari zbog standardiziranosti i jednostavnosti uzorkovanja. Analitička metoda izbora, ujedno i zlatni standard je plinska kromatografija s masenom spektrometrijom. Ipak, trendovi konzumacije novih psihoaktivnih tvari ne bi smjeli biti definirani na temelju ovakvih analiza zbog različitih ograničavajućih faktora poput ograničenosti broja uzoraka i nepoštivanja pravila reprezentativnosti.

**Ključne riječi:** kvalitativna analiza, biološki uzorci, nove psihoaktivne tvari, plinska kromatografija, masena spektrometrija

## 8.2. Abstract

**Introductions:** Psychoactive drugs represent a general term for substances with exceptionally powerful psychotropic effect, which were used as medications or more frequently for achieving certain sensation or state of mind during history. Lately, due to globalization and general technological advancements, we are faced with increasing number of new psychoactive substances, usually synthesized in laboratory. Because of insufficient data on pharmacological effect of these substances, they pose a serious threat for human health, especially among younger population more inclined to experimentation with such substances.

**Objective:** The objective of this paper was to describe optimal method for detection and identification of novel psychoactive substances in patients' biological samples and to determine a trend of their consumption.

**Materials and methods:** Materials, used in experimental section of this paper, were urine and blood serum of randomly picked patients which were prepared for toxicological analysis using extraction and derivatization. Method used for qualitative toxicological analysis was gas chromatography – mass spectrometry (GC – MS) which represents laboratory „gold standard“ method because of its accuracy, specificity, sensitivity and precision.

**Results:** Urine and blood serum samples are suitable biological material for qualitative analysis of new psychoactive substances because of standardization and ease of sampling. Analytical method of choice was gas chromatography with mass spectrometry. However, trends of consumption of new psychoactive substances should not be defined based on such analysis due to range of limiting factors from confined number of samples to violating the rule of representativeness.

**Key words:** qualitative analysis, biological samples, novel psychoactive substances, gas chromatography, mass spectrometry

## 9. ŽIVOTOPIS

**Ime i prezime:** Adriana Gustovarac

**Datum rođenja:** 4. travnja 1995.

**Mjesto rođenja:** Supetar

**Adresa:** Put sv. Josipa 115, 21405 Milna (Brač)

**E-mail:** adriana.gustovarac@gmail.com

Obrazovanje:

**Osnovna škola:** Osnovna škola Milna (Brač) pohađala od 2001. – 2009. godine

**Srednja škola:** Prirodoslovna tehnička škola Split, smjer Ekološki tehničar pohađala od 2009. – 2013.godine

**Fakultetsko obrazovanje:** Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, smjer Medicinsko laboratorijska dijagnostika, upisan u rujnu 2013.godine

**Škola stranih jezika:** Obrazovni centar Smaragd, pohađala tečaj engleskog jezika od 2000. – 2009.godine

## **Zahvala**

*Od srca zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Davorki Sutlović na trudu, pomoći, strpljenju i savjetima kojima me vodila kroz izradu ovog rada.*

*Također zahvaljujem svojoj obitelji na bezuvjetnoj podršci i razumijevanju tijekom cijelog svog studiranja.*

*Ovaj završni rad posvećujem svojim roditeljima. Hvala vam na svemu što ste mi pružili tijekom mog studija.*