

Bogdan Szukalski

Zakład Biochemii Instytutu Psychiatrii i Neurologii

# **AMFETAMINA, METAMFETAMINA I ICH PSYCHOAKTYWNE ANALOGI STRUKTURALNE**

## **1. Budowa i własności**

Amfetamina i metamfetamina są bezbarwnymi cieczami słabo rozpuszczalnymi w wodzie, dobrze natomiast w etanolu, chloroformie i eterze oraz, dzięki własnościom zasadowym, w kwasach. Okres półtrwania biologicznego amfetaminy wynosi 4-6 godzin, a metamfetaminy 9 godzin.

Syntezę amfetaminy przeprowadzono w r. 1887, ale jej właściwość pobudzania ośrodkowego układu nerwowego (OUN) wykryto dopiero w roku 1937, kiedy zastosowano ją do leczenia narkolepsji. Później amfetaminę używano jako środek rozszerzający oskrzela i zmniejszający łaknienie. Podczas II Wojny Światowej i Wojny Wietnamskiej amfetamina znalazła zastosowanie do usuwania objawów zmęczenia u pilotów i żołnierzy, a po wojnie była nielegalnie stosowana przez sportowców jako środek dopingujący. Później rozpowszechniło się, zwłaszcza wśród ludzi młodych, nadużywanie amfetaminy. W 1982 roku aż 18% Amerykanów w wieku 18-25 lat stosowało amfetaminę i jej strukturalne analogi.

Metamfetaminę otrzymano po raz pierwszy w roku 1919, ale na rynku narkotyków pojawiła się po II Wojnie Światowej. Posiada znacznie silniejsze niż amfetamina działanie ośrodkowe, natomiast słabsze obwodowe. Obie aminy wywołują zależność fizyczną i psychiczną.

Małe dawki amfetaminy przyjmowane przez krótki okres czasu powodują pobudzenie, zwiększoną aktywność, nadmierne poczucie pewności siebie, wzrost zdolności koncentracji, euforię, niepokój, tachykardię, kołatanie serca, przyspieszony i nieregularny oddech, ból głowy, suchość w ustach, biegunkę i obniżenie popędu płciowego.

Po dużych dawkach przyjmowanych przez krótki okres czasu mogą wystąpić: silne pobudzenie psychoruchowe, drażliwość, agresywne zachowanie, zlewne poty, bóle wieńcowe i zapaść sercowo-naczyniowa. Długotrwałe stosowa-

nie leku powoduje niepokój, zaburzenia snu, z zaburzeniami myślenia o treści urojeniowej, wzrost ciśnienia krwi, zaburzenia rytmu serca, brak łaknienia i wysypki skórne.

Dostęp narkomanów do produkowanej legalnie amfetaminy i metamfetaminy jest obecnie bardzo utrudniony, dlatego poszukują oni produktów wytwarzanych w wielu krajach przez nieuczciwych chemików w pokątnych laboratoriach. W odpowiedzi na to zapotrzebowanie powstała sieć nielegalnych laboratoriów, których łączna produkcja jest bardzo znaczna. W tej przestępczej działalności coraz większy udział mają tajne laboratoria na terenie Polski, wytwarzające amfetaminę nie tylko na nasz czarny rynek, ale również na eksport.

Nielegalne laboratoria stosują różne metody syntezy amfetaminy i metamfetaminy, najczęściej jednak korzystają z metody Leuckarta, w której surowcem jest benzylo-metylo-keton (fenylo-2-propanon; 2-P-2), objęty, oczywiście, ścisłą kontrolą międzynarodową. Oczyszczanie polega na destylacji z parą wodną lub ekstrakcji amfetaminy eterem. Reakcja wolnej amfetaminy z  $H_2SO_4$  prowadzi do siarczanu, mającego postać proszku. Zarówno amfetamina jak i metamfetamina posiadają w cząsteczce węgiel asymetryczny, co sprawia, że mogą występować w trzech odmianach: prawoskrętnej, lewoskrętnej i racemicznej, będącej równocząsteczkową mieszaniną obu odmian optycznie czynnych.

Amfetamina i metamfetamina otrzymywane w nielegalnych laboratoriach są racematami. Jeśli jednak do syntezy stosuje się optycznie czynne surowce - również produkt posiada czynność optyczną. Czystość syntetycznej amfetaminy może wynosić 90-99%, najczęściej jednak bywa ona zafałszowana glukozą, laktozą, sacharozą, mannitolem, siarczanem magnezu, glutaminianem sodu, fenazonem, antypiryną lub prokainą i taki zafałszowany produkt zawiera zwykle tylko 40% (lub nawet mniej) czynnej substancji.

Siarczan amfetaminy może mieć różne zabarwienie, od białego proszku, poprzez żółty, różowy do brązowego, zależnie od typu zanieczyszczeń i substancji fałszujących. Posiada zwykle nieprzyjemny zapach pochodzący od śladów rozpuszczalników używanych w toku produkcji. Amfetamina jest szerzej stosowana w Europie i USA, natomiast w Japonii bardziej rozpowszechniona jest metamfetamina.

W niektórych krajach w dość powszechnym użyciu są roztwory chlorowodoru metamfetaminy pospolicie zwanego „gold fish” a także błyszczące kryształy różnej wielkości, przypominające lód („Ice”). Cena 1 kg chlorowodoru d-metamfetaminy na czarnym rynku w USA wynosiła w 1990 roku ok. 90 tysięcy dolarów a najmniejsza „działka” (0,1 g) kosztowała 50 dolarów [37] (w Polsce „działka” nielegalnej amfetaminy kosztuje podobno ok. 200.000 sta-

rych zł). Metamfetamina jest tańsza niż kokaina i wywołuje dłuższy od niej okres euforii.

Pochodzące z nielegalnych laboratoriów amfetamina i metamfetamina posiadają zmienny skład, a więc mogą również różnić się działaniem. Zawierają one bowiem pośrednie i uboczne produkty syntezy, których rodzaj i ilość zależą od zastosowanej metody syntezy, źródła i proporcji użytych surowców, czasu reakcji, temperatury, warunków hydrolizy związków pośrednich i skuteczności metod oczyszczania produktu końcowego, jeśli były stosowane. Większość zanieczyszczeń to związki o charakterze obojętnym lub słabo zasadowym. Stanowią one 2-3% produktu końcowego.

Informacje na temat zanieczyszczeń występujących w ostatecznym produkcie są ważne z wielu powodów. Przede wszystkim substancje te mogą być bardzo toksyczne, jeśli więc wiadomo, że są obecne, można bardziej skutecznie przeciwdziałać toksycznym efektom produktu. Np.  $\alpha$ -benzylofenetyloamina i  $\alpha$ -benzylo-N-metylofenetyloamina, wykryte w amfetaminie i metamfetaminie syntetyzowanej z zanieczyszczonego P-2-P, posiadają niższe  $LD_{50}$  niż amfetamina, co zwiększa niebezpieczeństwo związane z użyciem produktu pochodzącego z nielegalnych źródeł. Informacje te pomagają ponadto ustalić metodę produkcji a niekiedy nawet zidentyfikować nielegalne laboratorium, z którego pochodzi produkt. Dla analityka i toksykologa ich znajomość ważna jest ze względu na możliwość uniknięcia komplikacji w toku badania przechwyconych przez policję próbek amfetaminy i metamfetaminy lub materiału biologicznego pochodzącego od narkomanów przyjmujących nielegalnie produkowane narkotyki [39].

Oprócz amfetaminy i metamfetaminy na nielegalnym rynku narkotyków występuje szereg ich psychoaktywnych analogów strukturalnych (tzw. „designer drugs”), zawierających cykliczne ugrupowanie dioksymetylenowe (Ryc.1) oraz różne podstawniki w pierścieniu benzenowym (Rys.2) [9,13, 18].

Oto ważniejsze z nich:

- 3,4-metylenodioksyamfetamina (MDA)
- 3,4-metylenodioksymetamfetamina (MDMA)
- 3-metoksy-4,5-metylenodioksyamfetamina (MMDA)
- 4-metoksyamfetamina (PMA)
- 4-metoksymetamfetamina (PMMA)
- 2,5-dimetoksyamfetamina (DMA)
- 2,5-dimetoksy-4-metyloamfetamina (DOM,STP)

2,5-dimetoksy-4-etyloamfetamina(DOET)

4-bromo-2,5-dimetoksyamfetamina(DOB)

3,4,5-trimetoksyamfetamina (TMA)

Związki te są na ogół nierozpuszczalne w wodzie, rozpuszczają się natomiast w rozpuszczalnikach organicznych -etanolu, eterze i chloroformie.

Żadna z wymienionych pochodnych amfetaminy nie była stosowana jako dopuszczony do obrotu lek. Choć DMA stosuje się w przemyśle fotograficznym i pewne jego ilości mogą pochodzić z legalnych źródeł, większość produkowana jest w nielegalnych laboratoriach. Poza DOB, DOET i STP, które są ciałami stałymi, pozostałe związki w postaci wolnej (wolnych zasad) mają postać oleistych cieczy od bezbarwnych do brunatnych i odznaczają się małą trwałością. Rozprowadzane są jednak głównie jako chlorowodorki w postaci proszku, tabletek, kapsułek a w przypadku DOB - także jako impregnowany narkotykiem papier.

Najwcześniej, bo w roku 1967, na nielegalnym rynku pojawił się STP, który zsyntetyzowano po raz pierwszy w roku 1963. Skrót ten pochodzi od słów Serenity, Tranquility, Peace (pogoda ducha, cisza, spokój). Działa on 100 razy silniej halucynogennie od meskaliny.

MDA zsyntetyzowano w 1910 roku, a zbadano na zwierzętach w roku 1939. Opatentowano go jako środek przeciwkaszlowy, uspokajający i znoszący łaknienie. Izomer lewoskrętny jest trzykrotnie aktywniejszy od prawoskrętnego. Produkowano go nielegalnie w postaci mieszaniny recemicznej i rozprowadzano w kapsułkach zawierających 200-230 mg związku. Dość dużą popularność uzyskał pod koniec lat 60-tych i na początku 70-tych jako tzw. „Mellow Drug of America” lub „Love Drug”. Choć zainteresowanie tym preparatem zmalało znacznie po roku 1973, kiedy stał się przyczyną kilku przypadków śmiertelnych, jest nadal używany w niektórych krajach [31].

DMA ma zastosowanie w przemyśle fotograficznym. Posiada aktywność 8-krotnie wyższą od meskaliny i sprzedawany był w latach 70-tych jako narkotyk na czarnym rynku w Kanadzie i USA.

MMDA zsyntetyzowany w roku 1962 posiada strukturę podobną do mirystycyny - głównego składnika gałki muszkatolowej. Jest trzykrotnie aktywniejszy od meskaliny. W dawce 150 mg używano go jako bardzo łagodny lek psycho-deliczny (rozszerzający zakres świadomości).

PMA stosowany był w latach siedemdziesiątych przez narkomanów w Kanadzie, a następnie w USA. Wykazuje aktywność pięciokrotnie większą od meskaliny [1].

TMA zsyntetyzowany w roku 1947 jest dwukrotnie aktywniejszy od meskaliny. Pojawił się na nielegalnym rynku w latach 70-tych.

DOB odznacza się olbrzymią aktywnością biologiczną, przewyższającą 200-krotnie aktywność meskaliny. Produkowano go nielegalnie i rozprowadzano najpierw w USA, Kanadzie i Australii a potem w Europie (początek lat 80-tych).

DOET opatentowany w roku 1970 jako środek stymulujący ośrodkowy układ nerwowy wykazuje aktywność 10 razy wyższą od meskaliny. Enancjomer lewoskrętny jest czterokrotnie aktywniejszy niż prawoskrętny.

Na szczególną uwagę zasługuje MDMA opatentowany w roku 1914, którego własności halucynogenne opisano w roku 1957 [41]. Stosowano go w latach 70-tych a ostatnio pojawił się powtórnie na nielegalnym rynku USA i Europy pod nazwami: „Ecstasy”, „XTC”, „Adam” i jego popularność wśród narkomanów wyraźnie wzrasta [1, 19]. W wyniku przedawkowania tego preparatu odnotowano kilka przypadków śmiertelnych [14]. Skuteczna dawka MDMA (wywołująca efekty oczekiwane przez biorcę) wynosi 75-200 mg, jednak zwykle jest ona znacznie wyższa. Efekty pojawiają się 20-60 minut po przyjęciu i trwają przez ok. 8 godz. Zależą one od nastroju i oczekiwań osoby przyjmującej narkotyki i polegają na uczuciu euforii (euphoric rush), nasileniu uczucia empatii między osobami przyjmującymi preparat, zwiększeniu percepcji otoczenia, działaniu psychodelicznym i ponownym przeżywaniu sytuacji z przeszłości (flash back).

Jednocześnie obserwuje się rozszerzenie źrenic, szczękościsk, mdłości, zawroty głowy, poty, suchość w ustach i gardle, utratę apetytu, zaburzenia koordynacji i trudności w prowadzeniu pojazdów. Przedawkowanie może prowadzić do śmierci w wyniku tzw. „złośliwego zespołu neuroleptycznego” („neuroleptic malignant syndrome”), na który składają się: rozszerzenie źrenic, drgawki, spadek ciśnienia krwi, tachykardia, wzrost temperatury ciała i śpiączka [1].

3,4-metylenodioksyamfetamina (MDA) i 3,4-metylenodioksymetamfetamina (MDMA) są najczęściej otrzymywane z odpowiednich ketonów: 1-fenylo-2-propanonu (P-2-P) lub 1-(3,4-metylenodioksyfenilo)-2-propanonu (MDP-2P) [45] oraz z dostępnych na rynku 1-fenylo-1-hydroksy-2-propanoamin: efedryny, pseudoefedryny, norefedryny i fenylopropanolaminy [30,34]. Aby ograniczyć nielegalną produkcję narkotyków poddano ścisłej kontroli sprzedaż i dystrybucję tych surowców. Skłoniło to chemików pracujących w nielegalnych laboratoriach do szukania alternatywnych metod syntezy tych związków. Np. niedawno doniesiono o produkowaniu przez nich 2-P-2 z 1-fenylo-2-nitropro-

peny [2] a MDP-2-P (prekursor MDMA) z izosafrolu [7]. Podejmowano również próby wykorzystania allilobenzenu zamiast safrolu jako surowca do syntezy metamfetaminy [32,33].

Inną próbą obejścia skutków ścisłej kontroli produkcji typowych substratów do nielegalnych syntez jest wykorzystywanie jako surowca benzyloacetonu, którego produkcja i dystrybucja nie podlegają na rynku amerykańskim kontroli. Przez reduktywną aminację benzyloacetonu otrzymuje się aktywne biologicznie homologi amfetaminy, bogatsze o 1 grupę metylenową:

1-fenylo-2-butanoaminę, N-metylo-1-fenylo-2-butanoaminę oraz N,N-dimetylo-1-fenylo-2-butanoaminę.

Na czarnym rynku w USA obecne są również inne narkotyki strukturalnie pokrewne amfetaminie, a mianowicie analogi MDA:

N-etylo-3,4-metylenodioksyamfetamina (3,4-metylenodiaksetamfetamina, MDE, N-etylo-MDA, „Eve”) i N-hydroksy-3,4-metylenodioksyamfetamina (N-hydroksy-MDA, NOH-MDA), które w dawkach 100-200 mg wywołują efekty psychotomimetyczne u ludzi [4, 11, 12]. Natomiast homolog MDMA o łańcuchu dłuższym o jedną grupę metylenową, czyli N-metylo-1-(3,4-metylenodioksyfenylo)-2-butanoamina, jest przedstawicielem nowej klasy związków psychoaktywnych o interesujących właściwościach farmakologicznych, które Nichols [28, 29] nazwał entaktogenami (Entactogens\*), ponieważ wywołują „przyjemny stan introspekcji ułatwiający porozumiewanie się w sprawach bolesnych”.

## 2. Przemiany w ustroju

Amfetamina dobrze wchłania się z przewodu pokarmowego i łatwo przenika przez barierę łożyskową. Główne drogi jej metabolizmu to oksydacyjna dezaminacja do fenylacetonu, hydroksylacja pierścienia do p-hydroksyamfetaminy oraz  $\beta$ -hydroksylacja łańcucha bocznego do pochodnych fenylizopropylaminy. Możliwa jest również N-oksydacja z utworzeniem pochodnej hydroksylaminy. Oba typy hydroksylacji są interesujące z farmakologicznego punktu widzenia, bo prowadzą do związków aktywnych biologicznie (norefedryna i p-hydroksyamfetamina), które znalazły zastosowanie jako leki [5, 15]. Metabolity te mogą ulegać dalszej hydroksylacji w pierścieniu lub łańcuchu bocznym do p-hydroksynorefedryny (ok. 5% podanej dawki amfetaminy) [5, 15] (Ryc. 3).

Fenylacetone - produkt oksydacyjnej dezaminacji amfetaminy-ulega dalszemu metabolizmowi na dwóch drogach: poprzez redukcję do drugorzędowego

\*Od greckich słów: endon - wewnątrz i genero- tworzyć, zapoczątkować oraz łacińskiego słowa tactus - dotknięcie, dotyk

alkoholu - benzylometylokarbinolu, przechodzącego do moczu w postaci sprzężonej z kwasem glukuronowym oraz przez utlenienie do kwasu benzoowego, który po połączeniu z glicyną wydala się w moczu jako kwas hipurowy [3].

Reakcja redukcji jest stereospecyficzna, ponieważ lek podany w formie racematu wydala się jako glukuronian d-benzylometylokarbinolu. Dodatkową drogę metaboliczną fenyloacetonu stanowi sprzężanie jego formy enolowej z kwasem siarkowym [15]. Tak więc produkt oksydatywnej dezaminacji amfetaminy przekształca się w co najmniej 3 różne metabolity [5, 15] (Rys. 3).

Przemiany amfetaminy wykazują duże różnice gatunkowe zarówno w zakresie dominującego typu reakcji biochemicznej jak i części dawki ulegającej metabolizmowi. I tak u człowieka i psa 30-40% amfetaminy przechodzi do moczu w postaci nie zmienionej, natomiast szczur, królik i świnka morska metabolizują lek w znacznie większym stopniu, gdyż w postaci nie zmienionej wydala się tylko 4-18% dawki [6].

U wszystkich badanych gatunków zwierząt, z wyjątkiem szczura, głównym metabolitem amfetaminy jest kwas benzoowy, natomiast p-hydroksyamfetamina wydalana jest w małych ilościach. W moczu królika występuje siarczan formy enolowej fenyloacetonu natomiast u człowieka, psa, królika i świnki morskiej wykrywano jedynie śladowe ilości tego związku lub nie wykrywano go wcale [15, 40].

Ilość powstających metabolitów zależy nie tylko od gatunku zwierzęcia, ale również od stereochemicznych właściwości cząsteczki leku, np. w sercu i mózgu gromadzi się większa ilość d-amfetaminy niż jej l-izomeru, a nasilenie hydroksylacji pierścienia aromatycznego, ocenianej na podstawie ilości p-hydroksyamfetaminy obecnej w moczu, jest wyraźnie wyższe po podaniu amfetaminy lewoskrętnej niż prawoskrętnej [5].

Po doustnym podaniu dawki 5 mg amfetaminy wykrywano ją w moczu przez 29 godzin i okres ten wydłużał się ze wzrostem dawki [15]. Po podaniu 5 mg metamfetaminy - była ona obecna w moczu przez 23 godziny.

Duży wpływ na wydalanie amfetaminy ma odczyn (pH) moczu. Przy normalnej kwasowości w ciągu pierwszej doby wydala się ok. 30% dawki a w ciągu 3-4 dni - 90 %, jednak to dobowe wydalanie może wzrosnąć do 74% - gdy mocz jest kwaśny a ulec obniżeniu do 1-4 % - gdy jest on zasadowy.

Większość pochodnych amfetaminy podstawionych w pierścieniu benzenowym ulega resorpcji z przewodu pokarmowego i łatwo przechodzi przez barierę krew-mózg, co tłumaczy szybkie działanie psychotropowe tych związków. Ich metabolizm w organizmie ludzkim nie jest jeszcze dokładnie znany, jednak

pewne fakty zostały już ustalone. Znaczna część przyjętej dawki tych połączeń wydalą się z moczem w postaci nie zmienionej, np. w ciągu doby 20% przyjętej dawki DOM oraz 10-40% dawki DOET. Dlatego metody ich wykrywania nastawione są na połączenia macierzyste a nie metabolity.

Metabolizm MDMA w organizmie ludzkim badali Lim i Foltz [24,25], którzy oprócz wykrytej wcześniej N-demetylacji tego związku [17,44] stwierdzili również 0-demetylację, dezaminację i 0-alkilację. Autorzy ci, stosując metodę chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową, zidentyfikowali w moczu osoby, która przyjmowała MDMA, 7 metabolitów tego związku i zaproponowali przypuszczalny obraz jego metabolizmu (Rys. 4.).

N-demetylacja MDMA prowadzi do MDA, który w wyniku dezaminacji przekształca się w (3,4-metylenodiodkso)-fenyloaceton (wzór VIII). Hydroliza pierścienia dioksymetylenowego daje odpowiednią dihydroksypochodną, która bardzo szybko (nie wykryto jej w moczu) ulega 0-metylacji do 4-hydroksy-3-metoksyfenyloacetonu (wzór VII).

Metabolit ten może powstawać również w wyniku następującej sekwencji reakcji: w wyniku hydrolizy 3,4-dihydroksymetylenowego pierścienia w MDMA powstaje 3,4-dihydroksymetamfetamina (wzór V), która ulega 0-metylacji w pozycji 3 lub 4 dając 2 pochodne.

0-metoksylowe: 3-hydroksy-4-metoksymetamfetaminę (wzór II) oraz 4-hydroksy-3-metoksymetamfetaminę (wzór III). Ten ostatni związek ulega N-demetylacji do 4-hydroksy-3-metoksyamfetaminy (wzór IV), a jego dezaminacja prowadzi do 4-hydroksy-3-metoksyfenyloacetonu (wzór VII).

Na temat przemian metabolicznych innych analogów amfetaminy informacji jest niewiele. Wiadomo jedynie, że z PMA powstaje 4-hydroksyamfetamina a w DOM grupa metylowa w pozycji 4 utlenia się do grupy karboksylowej [21,38].

Toksykolog analizujący mocz pobrany od osób podejrzanych o narkomanie amfetaminową lub metamfetaminową powinien pamiętać, że aminy te są metabolitami wielu dość powszechnie stosowanych leków. I tak, Clobenzoreks, Mefenoreks, Fenproporeks, Prenylamina, Amphetaminyl, Metamfetamina, Fenetylina, Etyloamfetamina i Selegilina ulegają w ustroju przemianie w amfetaminę a Benzfetamina, Furfenoreks, Dimetyloamfetamina, Deprenyl i Fenkamina przekształcają się w metamfetaminę.

### 3. Metody identyfikacji

W zapobieganiu i zwalczaniu narkomanii amfetaminowej ważna rola przypada metodom chemicznej identyfikacji amfetamin i jej strukturalnych analogów.



gów zarówno w materiale przechwyconym przez policję i służby celne, jak i pochodzącym od osób, które przyjmują te narkotyki.

Można wymienić dwa główne typy badań materiału biologicznego na obecność narkotyków.

- Dla potrzeb sądowych, to jest w celu identyfikacji substancji podlegających kontroli. Dodatni wynik badania próbki może spowodować zaskarżenie i skazanie osoby, u której znaleziono narkotyk.
- Dla potrzeb diagnostycznych, leczniczych i rehabilitacyjnych, to znaczy w celu ustalenia przyczyny intoksykacji lub kontroli abstynencji od narkotyku używanego wcześniej. Dodatni wynik badania nie pociąga za sobą w tym przypadku skutków prawnych, stanowi natomiast dla lekarza miarodajną wskazówkę w planowaniu dalszego leczenia dawcy próbki.

Do wyselekcjonowania próbek materiału biologicznego zawierających narkotyk służą tzw. metody skriningowe. Pozwalają one zbadać dużą liczbę próbek materiału (najczęściej jest to mocz pacjentów) w stosunkowo krótkim czasie. Powinny one być czułe, szybkie, proste w wykonaniu i niedrogie. Trzy pierwsze warunki spełniają w zasadzie metody immunologiczne. Na rynku jest kilka rodzajów takich testów: radioimmunologiczne (RIA)\*, immunoenzymatyczne (EIA), immunofluorescencyjne w świetle spolaryzowanym (FPIA) oraz oparte na hamowaniu aglutynacji lateksu (LAI). RIA, FPIA i EIA wymagają aparatury, która jest stosunkowo droga [8,22] i mogą być stosowane jedynie w laboratoriach dysponujących taką aparaturą.

Stosowanie testów immunologicznych, z uwagi na ich prostotę, nie wymaga udziału wyszkolonego i doświadczonego personelu, jednak ogólny nadzór nad badaniami muszą sprawować doświadczeni analitycy.

Testy immunologiczne oznaczają zarówno wolne jak i sprzężone formy narkotyków i ich metabolitów, nie jest więc konieczna wstępna hydroliza próbek moczu ani jakakolwiek inna obróbka badanego materiału. Czasem konieczne bywa jedynie doprowadzenie pH moczu do potrzebnej wartości lub odwirowanie go celem usunięcia zmeńnięć. Poza tym wystarczy postępować zgodnie z instrukcją producenta testów [36].

Jednakże przeciwciała stosowane w testach immunologicznych odznaczają się stosunkowo niską specyficznością, co prowadzi do reakcji krzyżowych. Dlatego wszystkie wyniki dodatnie uzyskane tymi metodami powinny być po-

---

\*Obecnie stosuje się je rzadziej, gdyż wymagają kontaktu z substancjami radioaktywnymi a ich wykonanie jest możliwe jedynie w laboratoriach dysponujących aparaturą do pomiaru aktywności promieniotwórczej.

twierdzone przez inną metodę opierającą się na odmiennej zasadzie chemicznej. Nosi ona nazwę metody confirmacyjnej.

Jako metodę skринingową można również użyć chromatografię cienkowarstwową (TLC), która jest niezbyt droga jeśli idzie o podstawowe wyposażenie i koszty związane z jej ustawieniem, ale bardziej pracochłonna i na ogół mniej czuła niż inne techniki. Ponadto wymaga doświadczonego personelu mogącego dokonać wnikliwej interpretacji wyników. Zaleca się ją jako postępowanie skринingowe, gdy pracochłonność badań odgrywa mniejszą rolę niż ich koszt.

Jeśli sytuacja finansowa laboratorium pozwala stosować wyłącznie metodę TLC, wynik badania nie może stanowić dowodu obecności narkotyku i nie powinien być wykorzystywany, gdy jego skutki obciążają badanego. Przy braku bardziej doskonałego wyposażenia rozwiązaniem do przyjęcia może być potwierdzenie wyniku przy użyciu innego układu rozwijającego i/lub innego odczynnika wywołującego.

Metody confirmacyjne powinny być przynajmniej tak czułe jak testy skринingowe, lecz bardziej od nich specyficzne. Należą do nich: chromatografia gazowa (GC), wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) [27] oraz chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią masową (GC/MS). Niekiedy rolę tę spełnia również chromatografia cienkowarstwową.

Chromatografia gazowa (GC) i wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) odznaczają się wysoką czułością i specyficnością, mogą więc służyć do potwierdzania przypuszczalnie dodatnich wyników prób skринingowych. Aparatura do tych badań jest jednak stosunkowo kosztowna w porównaniu z TLC i testami immunologicznymi a ponadto konieczny jest odpowiednio przeszkolony personel. Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią masową (GC/MS) jest najbardziej czułą i specyficzną metodą potwierdzania obecności narkotyku w próbce. Wymaga ona dużych nakładów na aparaturę, jej utrzymanie oraz wyszkolenie personelu, ale uzyskane wyniki rzadko bywają kwestionowane [26]. Stanowi więc ostateczne potwierdzenie rezultatów budzących wątpliwość.

Analiza metodą GC i GC/MS wymaga często uprzedniego przeprowadzenia oznaczanych substancji w specjalne pochodne o innych właściwościach chromatograficznych [10,23]. Chociaż etap ten jest czasochłonny a odczynniki do otrzymywania pochodnych kosztowne, jest on jednak zalecany z następujących powodów:

- \* Zwiększa czułość badania
- \* Otrzymane pochodne są bardziej stabilne termicznie niż substancja wyjściowa

- \* Pochodna ma lepsze właściwości chromatograficzne (kształt piku, czas retencji, separacja)
- \* Widmo masowe pochodnych zawiera jony lepiej nadające się do badania w spektrometrze masowym niż związek wyjściowy.

Oprócz wykrycia obecności narkotyku wskazane jest często oznaczenie jego ilości dostarczające ważnych informacji o stanie pacjenta. Niektóre metody immunologiczne pozwalają uzyskać wyniki ilościowe, jednak z powodu częstej obecności w próbce substancji wchodzących w reakcje krzyżowe, mają one charakter przybliżony. Wyniki ilościowe można również uzyskać za pomocą chromatografii cienkowarstwowej, ale z użyciem kosztownego densytometru, który także nie zawsze jest wystarczająco dokładny.

Ilościowa analiza metodami GC, HPLC lub GC/MS wymaga stosowania wewnętrznego standardu, który dodaje się do próbki przed ekstrakcją. Standard wewnętrzny pozwala również zmierzyć względne czasy retencji. Powinien on być strukturalnie podobny do badanych substancji, aby mógł ulegać ekstrakcji i przemianie w pochodne w takich samych warunkach jak substancje oznaczane, a jednocześnie można go było łatwo od nich odróżnić podczas chromatografii. Nie należy używać jako standardów wewnętrznych substancji, które mogą występować w moczu, np. innych narkotyków lub substancji endogennych.

Wstępną identyfikację amfetaminy, metamfetaminy i ich strukturalnych analogów można przeprowadzić za pomocą prostych testów barwnych (reakcji kropkowych) z odczynnikami Marquisa i Simona. Odczynnik Marquisa przygotowuje się dodając do 3 mL stężonego kwasu siarkowego 2-3 krople formaliny (40% roztworu aldehydu mrówkowego).

Wykonanie testu: Do 1-2 mg (lub 1-2 kropli) badanej substancji dodaje się 1-3 kropli odczynnika. Czulość reakcji wynosi 1/μg (wyniki testu - patrz Tabela 1).

Odczynnik Simona składa się z roztworu A i B. Roztwór A jest to 2% roztwór węgla sodowego.

Roztwór B jest mieszaniną roztworu nitroprusydku sodowego i aldehydu octowego w stosunku 10:1 (v/v).

Wykonanie testu: Do 1-2 mg (lub 1-2 kropli) badanej substancji dodaje się 1 kroplę roztworu A, miesza bagietką i dodaje 2 krople roztworu B (wyniki testu - patrz Tabela 1). Odczynnik Simona pozwala odróżnić aminy I-rzędowe (np. amfetamina) i II-rzędowe (np. metamfetamina).

Spośród metod stosowanych w analityce narkotyków szczególnie przydatne w naszych warunkach są metody odznaczające się względną prostotą wykonania i nie wymagające kosztownej aparatury, które można zastosować w małych regio-

nalnych laboratoriach. Taką metodą jest bez wątpienia chromatografia cienkowarstwowa (TLC), a zwłaszcza jej zminiaturyzowana, udoskonalona modyfikacja - wysokosprawna chromatografia cienkowarstwowa (HPTLC).

Dlatego analizę amfetaminy i jej strukturalnych analogów metodą chromatografii cienkowarstwowej omówimy bardziej szczegółowo.

Dla metod chromatograficznych sprawą bardzo istotną jest wstępne izolowanie oznaczanych substancji z moczu, gdyż jest on pod względem chemicznym materiałem bardzo złożonym, w którym interesujący nas związek (związeki) występuje w ilościach znikomych.

Przygotowanie próbki do analizy chromatograficznej polega zwykle na hydrolizie moczu, jego ekstrakcji i oczyszczaniu oznaczonego składnika. Postępowanie powinno dawać wysoki odzysk, niezbędny do uzyskania w ekstrakcie ilości substancji wystarczającej do dalszego badania.

W przypadku analizy amfetaminy i jej analogów hydroliza nie jest potrzebna. Ekstrakcję z moczu można prowadzić za pomocą rozpuszczalników organicznych (np. chlorku metylenu) lub specjalnych kolumniek ekstrakcyjnych. Ekstrakcję przy pomocy rozpuszczalników organicznych przeprowadza się w środowisku alkalicznym, gdy grupa aminowa jest wolna. Wartość  $pK_a$  dla amfetaminy wynosi 9,9 a dla metamfetaminy 10, 1, natomiast pH do którego należy doprowadzić mocz, aby odzysk był optymalny, wynosi 11. Można polecić postępowanie opisane przez Hornbecka i Czarnego [20]. Do próbki na 50 mL odpipetowuje się 2 mL moczu i dodaje kolejno: 2 mL 1 M roztworu wodorotlenku sodowego, 5 mL wody i 20 mL chlorku metylenu (dichlorometanu). Zamkniętą próbkę wytrząsa się, wiruje przy małej szybkości przez 5 minut i odrzuca górną warstwę. Pozostałość odparowuje się do sucha w strumieniu azotu, rozpuszcza w niewielkiej ilości metanolu i nanosi na płytkę chromatograficzną

Stosowana ostatnio coraz częściej ekstrakcja w fazie stałej (Solid Phase Extraction - SPE) przy użyciu przygotowywanych fabrycznie kolumniek ekstrakcyjnych, ma szereg zalet: oszczędność czasu, małe objętości zużywanych odczynników oraz uniknięcie kłopotów związanych z powstawaniem emulsji, co zdarza się często przy ekstrakcji ciecz-ciecz [7]. Mankamentem jest jednak dość wysoka cena kolumniek. Wypełnienie kolumniek stanowi kizelgur (diatomaceous earth) lub krzemionka zawierająca grupy niepolarne (octadecyl silica) [40], kationowymienne lub z podstawnikami mieszanymi (niepolarnymi i jonowymienymi) [18, 43]. Kolumniki stosuje się zgodnie z instrukcją producenta.

Oto typowe postępowanie z kolumnką wypełnioną silnym kationitem. Kolumnkę o pojemności 1 mL przemywa się pod próżnią metanolem (2 mL), wodą (1

mL) i kwasem fosforowym (0,5 mL, 10 mM). Mocz (1 mL) i kwas fosforowy (0,5 mL, 10 mM) miesza się starannie w probówce i wlewa do kolumnienki. Kolumnienkę suszy się powietrzem przez około 30 sekund i płucze kolejno kwasem fosforowym (1 mL, 10 mM), kwasem octowym (0,5 mL, 0,1 mM) i metanolem (1 mL). Po powtórnym wysuszeniu kolumnienki (powietrze, 30 sek.) aminy eluuje się 2 mL metanolu z dodatkiem stężonego roztworu amoniaku (3% v/v). Ekstrakt odparowuje się do sucha pod próżnią lub w strumieniu azotu. Suchą pozostałość, po rozpuszczeniu w niewielkiej ilości metanolu, nanosi się na płytkę chromatograficzną.

Efektywność chromatografii cienkowarstwowej można zwiększyć stosując obok klasycznego wariantu (fazy normalnej) - tzw. fazę odwróconą (Reversed Phase - RP). Fazę normalną przy analizie amfetamin stanowi silica-gel 60 F<sub>254s</sub>, a odwróconą - RP-18 F<sub>254s</sub>. Ponieważ w fazie normalnej i odwróconej działają różne mechanizmy rozdzielcze, możliwości identyfikacyjne metody z jednoczesnym użyciem obu faz są większe niż przy zastosowaniu dwóch układów normalnych. Dobrym układem rozwijającym dla płytek pokrytych RP-18 F<sub>254s</sub> jest mieszanina metanolu, wody i 37% HCl w stosunku 50:50:1 (v/v), a dla pokrytych silica-gelem - mieszanina toluenu, acetonu, 94% etanolu i 25% NH<sub>4</sub>OH w stosunku 45:45:7:3 v/v.

Przed przystąpieniem do wywoływania plam, płytki należy wysuszyć w temperaturze pokojowej, w piecu o temperaturze 120°C, lub przy użyciu gorącego powietrza. Dla prawidłowej barwy plam ważne jest usunięcie z płytki śladów amoniaku.

Do wywoływania płytek najczęściej stosuje się 0,5% roztwór Fast Black K (FBK), który daje z amfetaminą i jej analogami plamy o zróżnicowanym zabarwieniu. Są one trwalsze i czytelniejsze niż przy użyciu odczynnika Fast Blue B, a reakcja wykazuje większą czułość niż przy barwieniu ninhydryną. FBK reaguje ponadto z fenolami, aryloaminami i niektórymi związkami heterocyklicznymi [35].

Barwy plam amfetaminy i jej analogów strukturalnych po wywołaniu FBK można podzielić na 2 grupy:

- a) czerwona i czerwonepomarańczowa, które dają alifatyczne i aromatyczne aminy II-rzędowe
- b) fioletowa i fioletowoniebieska, charakterystyczne dla alifatycznych i aromatycznych amin I-rzędowych (Tabela 2).

Jednakże w zależności od rodzaju związku i warunków wywoływania aminy I-rzędowe mogą dawać barwę czerwono-fioletową lub nawet czerwoną. Aminy III-rzędowe, np. imipramina, w zasadzie nie reagują z FBK.

Do wywoływania amfetaminy i jej analogów można również użyć 10% roztwór ninhydryny w etanolu, którym spryskuje się płytkę i ogrzewa ją w piecu przy 120°C przez przynajmniej 15 min. Amfetamina i inne aminy pierwszorzędowe dają zabarwienie fioletowe i różowe a drugorzędowe, np. metamfetamina - plamy bardziej intensywne.

### Streszczenie

Przedstawiono budowę, własności i metabolizm psychoaktywnych analogów amfetaminy, pozostających pod ścisłą kontrolą międzynarodową. Omówiono próby opanowania przez nielegalne laboratoria nowych metod syntezy tych narkotyków z surowców, które nie zostały dotychczas objęte kontrolą.

Oddzielny rozdział poświęcono metodom wykrywania i oznaczania związków tej grupy zarówno w materiale przechwyconym przez policję i służby celne jak i pochodzącym od amfetaminowych narkomanów, kładąc szczególny nacisk na wysokosprawną chromatografię cienkowarstwową (HPTLC), która nie wymaga kosztownej aparatury i może być wykorzystana w małych laboratoriach regionalnych.

Tabela 1  
Wyniki barwnych testów amfetaminy i jej analogów z odczynnikami Marquisa i Simona

Związek	Odczynnik Marquisa	Barwa
Amfetamina	od jasnopomarańczowej do brązowej	Odczynnik Simona od BR do brązowej
PMA	od BR do jasnozielonej	jasnoróżowa
DMA	od zielonej do ciemnozielonej	ciemnoróżowa
DOB	od żółtozielonej do zielonej	jasnoróżowa
DOET	żółto-brązowa	jasnoróżowa
STP(DOM)	żółta	jasnoróżowa
MDA	czarna	jasnoróżowa
TMA (3,4,5-TMA)	pomarańczowoczerwona	jasnoróżowa
MMDA	purpurowa	jasnoróżowa
MDMA	czarna	ciemnoniebieska
metamfetamina	od pomarańczowej do czerwono-brązowej	ciemnoniebieska
BR	- brak reakcji	

Tabela 2  
Ruchliwość chromatograficzna i zabarwienie z FBK<sup>1</sup> amfetaminy i jej strukturalnych analogów

Związek	Barwa zFBK	Wartości hRf <sup>2</sup> w różnych układach rozwijających			
		A <sup>5</sup>	B <sup>6</sup>	C <sup>7</sup>	D <sup>8</sup>
Amfetamina	F <sup>3</sup>	37	44	66	57
PMA	F	33	41	62	54
DMA (2,5-DMA)	F	34	37	65	46
DOB	F	35	37	62	27
DOET	F	34	36	61	19
DOM (STP)	F	34	35	66	30
MDA	F	35	41	62	54
TMA	F	26	35	48	59
MMDA	F	32	40	61	51
MDMA	C	13	31	62	52
Metamfetamina	C <sup>4</sup>	12	33	63	53
N-etylo-MDA	C	26			47
N-etyloamfetamina	C	28			49
Efedryna	C	7			63
Pseudoefedryna	C	65			64
Fenylopropanolamina	F	47			67

1. FBK = Fast Black K Salt

2.  $hRf = \frac{\text{droga przebyta przez cząsteczki narkotyku}}{\text{droga przebyta przez czoło fazy ruchomej}} \times 100$

3. F = barwa fioletowa lub fioletowoniebieska

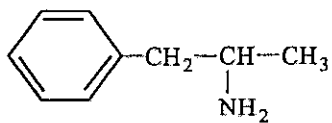
4. C = barwa czerwona lub czerwonepomarańczowa.

5. Układ A: Toluen 45 - aceton 45 - 94% etanol 7 - 25% NH<sub>3</sub> - 3 (Płytki: silica-gel 60 F<sub>254</sub>)

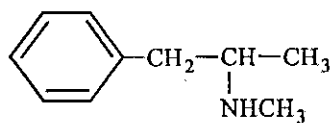
6. Układ B: Metanol 100 - 25% NH<sub>3</sub> 1,5 (Płytki: silica-gel 60 F<sub>254</sub>)

7. Układ C: Octan etylu 85 - metanol 10 - 25% NH<sub>3</sub> 3 (Płytki: silica-gel 60 F<sub>254</sub>)

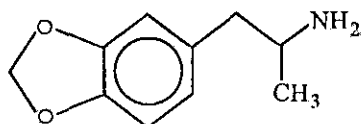
8. Układ D: Metanol 50 - woda 50 - 35% HCL 1 (Płytki: RP - 18 F<sub>254s</sub>).



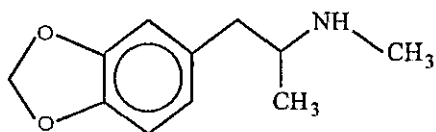
Amfetamina



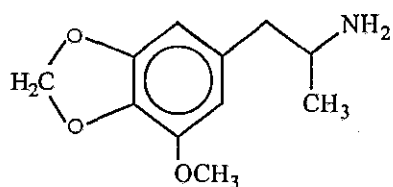
Metamfetamina



MDA.



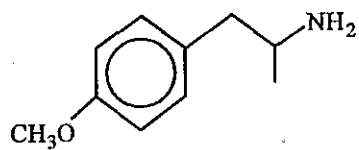
MDMA.



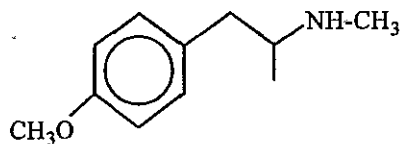
MMDA.

Ryc 1. Amfetamina, metamfetamina i ich metylelioksi pochodne MDA, MDMA i MMDA

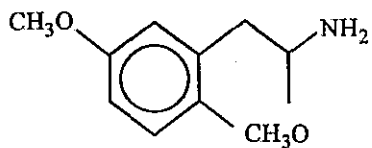




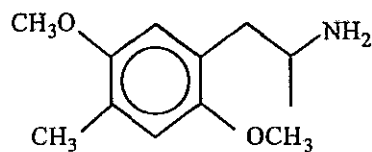
PMA



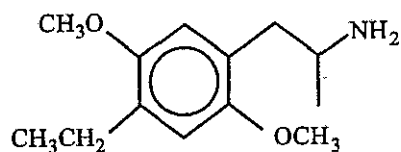
PMMA



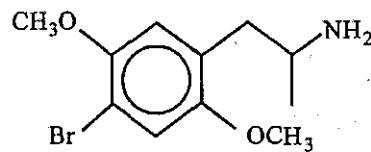
2,5 - DMA



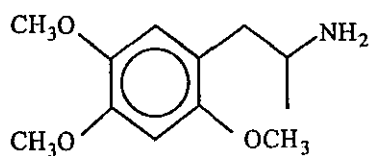
DOM.



DOET.

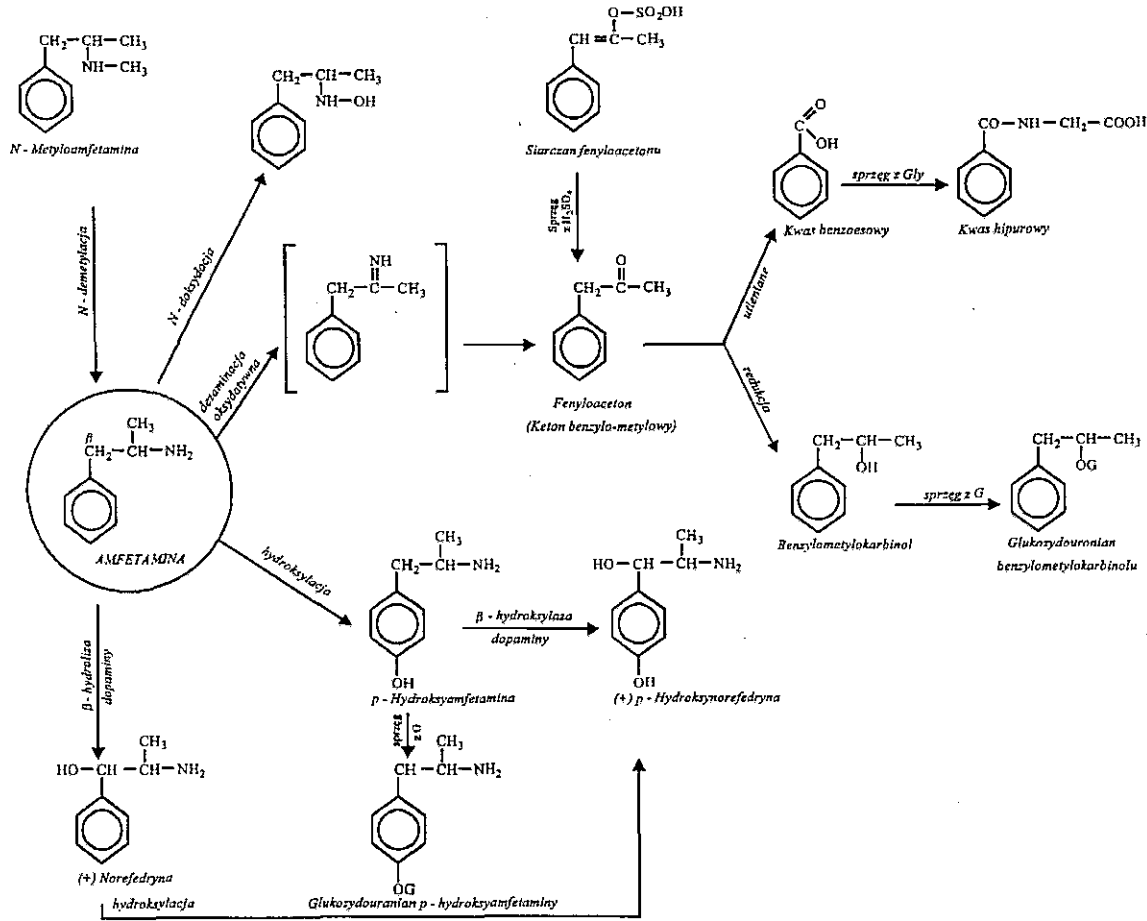


DOB.

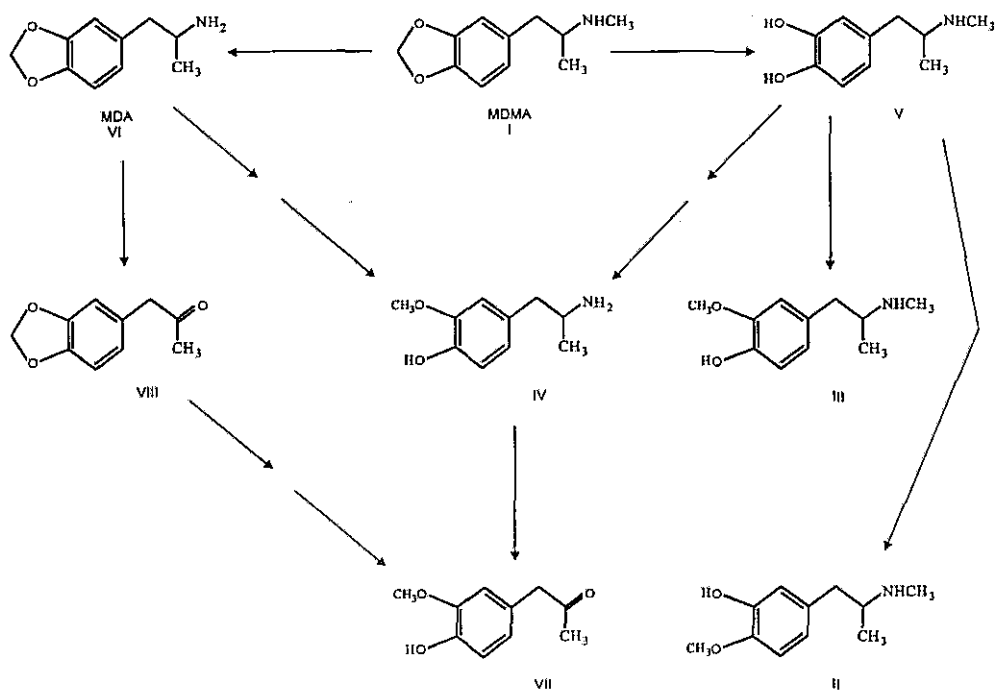


TMA.

Ryc 2. Analogi strukturalne amfetaminy i metamfetaminy podstawione w pierścieniu benzenowym



Ryc 3. Metabolizm amfetaminy i metamfetaminy (N-metyloamfetaminy) - wg 42



Ryc 4. Przypuszczalny metabolizm MDMA

I. MDMA, II. 3-hydroksy-4-metoksymetamfetamina,  
 III. 4-hydroksy-3-metoksymetamfetamina, IV. 4-hydroksy-3-metoksymetamfetamina, V. 3,4-dihydroksymetamfetamina, VI. MDA, VII (4-hydroksy-3-metoksymetamfetaminylo)-aceton, VIII. [(3,4-metylenodioksi)-fenylo]-aceton.

Bogdan Szukalski  
**Amphetamine, methamphetamine and their  
psychoactive structural analogies**

**Summary**

The structure, properties and metabolism of the psychoactive analogies of amphetamine, strictly controlled by international bodies, is discussed. Attempts to master new methods of amphetamine based drugs synthesis from substances which remain so far uncontrolled, in illegal laboratories are discussed. Separate section is devoted to methods of detecting and identification of these substances both, in materials seized by police and customs and coming from amphetamine dependent individuals. Special attention is paid to highly effective HPTLC method, which does not require expensive equipment and may be utilized in small regional laboratories.

**Key words: amphetamine, methamphetamine psychoactive structural analogies.**

**Piśmiennictwo**

1. Anderson R.A.: (1994) Recent Developments in the Analysis of Controlled Drugs in Biological Specimens. United Nations Meeting in Thessaloniki, October 3-7.

2. Barbato J.J. : (1990) Identification of 1-phenyl-2-nitropropen, *Microgram*, 23, 35-36.

3. Beckett A.H., Rowland M.: (1965) Urinary Excretion Kinetics of Methamphetamine in Man, *J. Pharmacol.*, 17 suppl. 109 s - 114 s.

4. Braun U., Shulgin A.T., Braun G.: (1980) Centrally active N-substituted analogs of 3,4-methylenedioxyphenylisopropylamine (3,4-methylenedioxyamphetamine), *J.Pharm. Sci.*, 69, 192-195.

5. Caldwell J., Dring L.G., Williams R.T.: (1972) Metabolism of  $^{14}C$ /Methamphetamine in Man, the Guinea Pig and the Rat, *Biochem. J.*, 129, 11-22.

6. Caldwell J.: (1976) The metabolism of amphetamines in mammals, *Drug Metab. Rev.*, 5, 219-280.

7. Chen X., Wijsbeek J., Van Veen. J., Franke J.P., Zeeuw de R.A.: (1970) Solid-Phase Extraction for the Screening of Acidic, Neutral and Basic Drugs in Plasma using a Single Column Procedure on Bond Elut Certify, *J. Chromatogr.*, 529, 161-166.

8. Cody J.T.: (1990) Cross-Reactivity of Amphetamine Analogues with Roche Abuscreen Radioimmunoassay Reagents, *J. Anal. Toxicol.*, 14, 50-53.
9. Cooper D.A.: (1990) Future Synthetic Drugs of Abuse. Proceedings of the International Symposium on the Forensic Aspects of Controlled Substances, U.S. Government Printing Office, Stock Number PB90-199472, pp. 79-103.
10. Czarny R.J., Hornbeck C.L.: (1989) Quantitation of Methamphetamine and Amphetamine in Urine by Capillary GC/MS. Part II. Derivatisation with 4-Carboxyhexafluorobutyl Chloride, *J. Anal. Toxicol.*, 13, 257-262.
11. Dal Cason T.A.: (1981) The Characterisation of Some 3,4-Methylenedioxyphenylisopropylamine (MDA) Analogs, *J. Forensic. Sci.*, 34, 928-961.
12. Dal Cason T.A.: (1990) An Evaluation of the Potential for Clandestine Manufacture of 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA) Analogs and Homologs, *J. Forensic Sci.*, 35, 675-697.
13. Davis W.M., Borne R.F.: (1984) Pharmacological investigation of compounds related to 3,4-methylenedioxyamphetamine, *Substance and Alcohol Actions-Misuse*, 5, 105-110.
14. Dowling G.P., McDonough E.T., Bost R.O.: (1987) Eve and Ecstasy: a report of five deaths associated with the use of MDEA and MDMA, *JAMA*, 257, 1615-1617.
15. Dring L.G., Smith R.L., Williams R.T.: (1966) The Fate of Amphetamine in Man and other Mammals. *J. Pharm Pharmacol.*, 18, 402-405.
16. Frank R.S.: (1993) The clandestine drug laboratory situation in the United States, *J. Forensic Sci.*, 28, 18.
17. Gollamudi R., Lopez M., Leaky J., Webb D., Slikker W.: (1988) Metabolism of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) by rat liver microsomes, *Toxicologist* 8, 200, Abs. 797.
18. Haislip G.R.: „The Evolution of Designer Drugs”, in: *Clandestinely Produced Drugs, Analogs and Precursors*, Proc. Intern. Conf. on Assessment of Drug Control Issues of Controlled Substance Analogs, Rabat, Marocco 1987.
19. Hayner G.H., McKinney H.: (1986) MDMA - the dark side of ecstasy, *J. Psychoactive Drugs*, 18, 341-347.
20. Hornbeck C.L., Czarny R.J.: (1989) Quantitation of Methamphetamine and Amphetamine in Urine by Capillary GC/MS, Part I. Advantages of Trichloroacetyl Derivatisation, *J. Anal. Toxicol.*, 13, 251-262.
21. Kitchen I., Trembley J., Andre J., Dring L.G., Idle J.R., Smith R.L., Williams R.T.: (1979) Interindividual and Interspecies Variations in the Metabolism of the Hallucinogen 4-Methoxyamphetamine, *Xenobiotica*, 9, 397-404.

22. Kunsman G.W., Manno J.E., Cockerham K.R., Manno B.R.: (1981) Application of the Syva EMIT and Abbott TDx Amphetamine Immunoassays to the Detection of 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA) and 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDEA) in Urine. *J. Anal. Toxicol.*, 14, 149-153.

23. Lillsunde P., Korte T.: (1991) Determination of Ring- and N-Substituted Amphetamines as Heptafluorobutyrylo Derivatives, *Forensic Sci., Internat.*, 49, 205-213.

24. Lim H.K., Foltz R.L.: (1988) In vivo and in vitro metabolism of 3,4-methylenedioxyamphetamine in the rat: Identification of metabolites using ion trap detector, *Chem. Res. Toxicol.*, 1, 370-378.

25. Lim H.K., Foltz R.L.: (1989) Identification of Metabolites 3, 4- (Methylenedioxy)-methamphetamine in Human Urine, *Chem. Res. Toxicol.*, 2, 142-143.

26. Maeder G., Pelletier M., Haerdi W.: (1992) Determination of amphetamines by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. On-line pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate and preconcentration, *J. of Chromatogr.*, 593, 9-14.

27. Nagai T., Kamiyama S.: (1991) Simultaneous HPLC Analysis of Optical Isomers of Methamphetamine and its Metabolites and Stereoselective Metabolism of Racemic Methamphetamine in Rat Urine, *J. Anal. Toxicol.*, 15, 299-304.

28. Nichols D.E., Hoffman A.J., Oberlender R.A., Jacob P., Shulgin A.T.: (1986) Derivatives of 1-(1, 3-benzodioxol-5-yl) 2-butanamines: Representatives of a novel therapeutic class, *J. Med. Chem.*, 29, 2009-2015.

29. Nichols D.E.: (1986) Differences between the Mechanism of MDMA, MBDB, and the Classical Hallucinogens; Identification of a New Therapeutic Class: Entactogens, *J. Psychoact. Drugs*, 18, 305-313.

30. Noggle F.T., DeRuiter J., Clark C.R.: (1987) Liquid chromatographic determination of the enantiomeric composition of amphetamine prepared from norephedrine and norpseudoephedrine. *J. Chromatogr. Sci.*, 25, 38-42.

31. Noggle F.T., Clark C.R., Valaer A.K., DeRuiter J.: (1988) Liquid chromatographic and mass spectral analysis of N-substituted analogues of 3,4-methylenedioxyamphetamine, *J. Chromatogr. Sci.*, 26, 410-415.

32. Noggle F.T., Clark C.R., DeRuiter J.: (1991) Gas chromatographic and mass spectrometric analysis of samples from a clandestine laboratory involved in the synthesis of Ecstasy from sassafras oil. *J. Chromatogr. Sci.*, 29, 168-173.

33. Noggle F.T., Clark C.R., DeRuiter J.: (1994) Evaluation of allylbenzene as a precursor for the synthesis of methamphetamine, *Microgram*, 27, 302-315.

34. Noggle F.T., Clark C.R., DeRuiter J.: (1995) GC-MS and liquid chromatographic analysis of amphetamine and amphetamine - type products formed in the reaction of arylopropenes with acetonitrile and sulfuric acid, *Microgram*, 28, 12-26.

35. Ojanpera I., Lillsunde P., Vartiovaara J., Vuori E.: (1991) Screening for Amphetamines with a Combination of Normal and Reversed Phase Thin Layer Chromatography and Visualization with Fast Black K Salt. *J. Planar Chromatography*, 4, 373-378.

36. Ruangyuttikarn W., Moody D.E.: (1988) Comparison of Three Commercial Amphetamine Immunoassays for Detection of Methamphetamine, Methylenedioxyamphetamine, Methylenedioxymetamphetamine and Methylenedioxyethylamphetamine, *J. Anal. Toxicol.*, 12, 229-233.

37. Sager R.K.: (1990) More information on „ICE”, *Microgram*, 23, 66-68.

38. Sargent T., Kalbhen D.A., Shulgin A.T., Braun G., Stauffer H., Kusubor N.: (1975) In vivo Human Pharmacodynamics of the Psychodysleptic 4-Bromo-2,5-dimethoxyphenyl-isopropylamine Labeled with Bromine-82 or Bromine-87, *Neuropharmacol.*, 14, 165-174.

39. Schwarzhoff R., Cody J.T.: (1993) The Effects of Adulterating Agents on FPIA Analysis of Urine for drugs of Abuse, *J. Anal. Toxicol.*, 17, 14-17.

40. Shimosato K., Tomita M., Ijiri I.: (1986) Urinary Excretion of p-Hydroxylated Methamphetamine Metabolites in Man. I. A Method for Determination by High-Performance Liquid Chromatography-Electrochemistry, *Arch. Toxicol.*, 59, 135-140.

41. Shulgin A.T.: (1986) The Background and Chemistry of MDMA, *J. Psychoact. Drugs*, 18, 291-305.

42. Szukalski B., Kobylińska M., Jahn W.: (1973) Zarys metabolizmu leków, PZWL, Warszawa, str. 68.

43. Taylor R.W., Le S.D., Philip S., Jain N.C.: (1989) Simultaneous Identification of Amphetamine and Methamphetamine Using Solid Phase Extraction and Gas Chromatography/Nitrogen Phosphorus Detection or Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *J. Analyt. Toxicol.*, 13, 293-295.

44. Verebey K., Alrazi J., Jaffe J.H.: (1988) The complications of „ecstasy” (MDMA), *J. Am. Med. Assoc.*, 259, 1649-1650.

45. Verweij A.M.: (1989) Impurities in illicit drug preparations: amphetamine and metamphetamine, *Forensic. Sci. Rev.*, 1, 1-11.