

Kannabinoidok kimutatása és mennyiségi meghatározása biológiai mintákban

PhD értekezés tézisei

Hidvégi Előd

Témavezető: **Dr. Dános Béla**, habil. egyetemi docens
Kutatóhelyi konzulens: **Dr. Somogyi Gábor Pál**, PhD, c. egyetemi tanár

ELTE Biológia Doktori Iskola

Vezetője: **Dr. Erdei Anna**, DSc., egyetemi tanár

Kísérletes Növénybiológia Doktori Program

Vezetője: **Dr. Szigeti Zoltán**, DSc., egyetemi tanár

Kutatóhely:

**Igazságügyi Szakértői és Kutató Intézetek
Országos Toxikológiai Intézet**



**Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar
Növény szervezettani Tanszék**

Budapest

2013

1. Bevezetés

Magyarországon az utóbbi 20 évben folyamatosan magas a lefoglalt kender-eredetű kábítószer (marihuána és hasis) mennyisége és a *Cannabis* fogyasztása tekintetében pozitív vér- és vizeletvizsgálatok száma. A Büntető Törvénykönyv (Btk.) értelmében a *Cannabis*-szal, mint kábítószerrel való visszaélés büntettnek minősül. Az **Országos Toxikológiai Intézet** (OTI) – ahol az alábbi értekezés készült – egyik fő feladata, hogy humán mérgezési esetekben szakvéleményt adjon. Ezen kívül bűncselekmény gyanúja esetén az OTI végzi el a legtöbb, rendőrség által biztosított **vér- és vizeletminta** vizsgálatát a **kábítószer-fogyasztás igazolása** érdekében. A Btk. ellen vét az is, aki a vezetési képességre hátrányosan ható szer befolyása alatt gépjárművet vezet. Ilyenkor a **befolyásoltág megállapítása** orvosszakértő feladata, aki felhasználja a gyanúsítottaktól levett vér ugyancsak intézetünkben elvégzett elemzésének eredményét. Az OTI szakértőinek komoly jogkövetkezménnyel bíró munkájából adódik, hogy minél gyorsabb, érzékenyebb, szélesebb spektrumú és megbízhatóbb vizsgálatokra törekszünk. Ebből következően intézetünk szakértői kutató-fejlesztő munkát is végeznek. Ez vált szükségessé a *Cannabis* fő hatóanyagainak, a kannabinoidoknak az elemzése terén is, amelyet az alábbiakban mutatok be.

A **kender** egyéves, szélporozta, rövidnappalos, kétlaki növény. A nemzetségben 2 fajt különítenek el, a vadkendert (*Cannabis ruderalis* Janisch.) és a termesztett kendert (*C. sativa* L.), bár a *C. indica*-t is egyre inkább külön fajnak tekintik. Terpenofenol típusú **kannabinoidokat** mindkét faj tartalmaz, eltérő mennyiségben és arányban. Különösen a női virágokat burkoló murvalevelek mirigyszőrei választják ki azt a gyantyszerű terméket, amelyben a kannabinoidokon kívül főleg terpének találhatók. Ez tartalmazza a **pszichoaktív hatóanyagot**, a **(-)-transz-(6aR,10aR)- Δ^9 -tetrahidrokannabinolt (Δ^9 -THC)**. A kannabinoidok bioszintézise során a központi vegyületeként keletkező kannabigerolsavból kannabinoid-savak (pl. Δ^9 -THC-karbonsav A, Δ^9 -THCA-A) keletkeznek. A kannabinoidok nagy számához (80<) az ún. homológok is hozzájárulnak. Ezeknél a 3. szénatomhoz a pentil-oldallánc helyett pl. butil-csoportok kapcsolódnak. A kannabinoid-tartalmat elsősorban genetikai tényezők határozzák meg, de függ a gének expressziójától és a bioszintetikus enzimek aktivitásától is. Kábítószer-növénynek kizárólag a magas Δ^9 -THC-tartalmú *C. sativa* tekinthető. **A nőivarú egyedek virágzó hajtásvégéből készített leggyakoribb szárított drog a marihuána.** A Magyarországon forgalomban lévő marihuána-minták 90 %-ában a szabad Δ^9 -THC-tartalom 0,02–12 % (2011). Az élvezeti célú *Cannabis sativa*, ill. a belőle előállított

drog számos változatban létezik, amelyek zöme „sativa”, ill. „indica” típusra különíthető el. Ezek mellett sok hibrid változat létezik (*sativa* × *indica*).

Kábítószerként való használata során leggyakrabban a meggyújtott drog füstjét szívják cigarettában, melynek során a **kannabinoid-savak termikus dekarboxileződése** megy végbe. Ennek során a Δ^9 -THCA-ból Δ^9 -THC keletkezik. A *Cannabis*-fogyasztók testnedveiben a többi kannabinoid dekarboxilált formája, valamint azok metabolitjai is kimutathatók lehetnek. Δ^9 -THC metabolizmusa során hidroxiláció és a hidroxil-csoportok további oxidálása megy végbe. **A fő metabolit a (-)-11-nor-9-karboxi- Δ^9 -THC (Δ^9 -THC-COOH).** Ezután glükuronid-konjugáció történik, ami elősegíti a kiválasztást. Marihuána-fogyasztást követően általában 9 perc körül mérhető a Δ^9 -THC csúcskoncentrációja a vérben, amely a 200 ng/ml-t is elérheti, és amely ezt követően gyorsan lecsökken. A Δ^9 -THC-COOH vérkoncentrációja azonban csak a szívás megkezdése után kb. 30 perccel éri el maximális értékét. 0,5 ng/ml-es kimutatási határ mellett a Δ^9 -THC kimutathatóságának ideje vérplazmában 3–27 óra. A vizeletben a Δ^9 -THC-COOH koncentrációja – a csúcskoncentráció elérését követően – viszonylag gyorsan lecsökken 20–50 ng/ml-re, majd ez a csökkenés lelassul. Rendszeres fogyasztóknál a fogyasztás abbahagyása után több, mint 2 héttel is 15 ng/ml feletti koncentrációban lehet kimutatható a Δ^9 -THC-COOH.

A **kannabinoidok növényi mintákból** történő kivonásához a szerves oldószerrel történő szilárd–folyadék extrakció a legalkalmasabb. A kannabinoidok elválasztására vékonyréteg-, és számtalan korszerű kromatográfiás módszer áll rendelkezésre. A gázkromatográfiás módszerek, ha nem történik származékképzés, a dekarboxiláció miatt együtt mérik a kannabinoidokat és a megfelelő sav-formát. Ma a kriminalisztikában ez az elfogadott megközelítés. A VRK és HPLC vizsgálat a „szabad” Δ^9 -THC-tartalom meghatározására alkalmas, emiatt a kapott mennyiségi eredmény alacsonyabb a gázkromatográfiás eredménynél.

A **vérben** zömmel GC/MS módszerrel, SIM üzemmódban határozzák meg a tetrahidrokannabinoidokat. Kinyerésükre gyakran folyadék–folyadék extrakciót (FFE) vagy szilárd fázisú extrakciót (SPE) végeznek C18-as módosítású töltettel. Utóbbi esetben az elúció szerves oldószerrel valósítható meg. A mintaelőkészítés végezhető két lépésben is: elsőként egy szerves oldószeres extrakcióval párhuzamos fehérjekicsapással, majd szilárd fázisú extrakcióval. Az extrakciót és bepárlást követő származékképzés módja leggyakrabban a metilezés, szililezés és az acilezés.

A hasis vagy marihuána néhány napon belül történt fogyasztásának igazolására a **kannabinoidok vizeletből** történő kimutatása a legalkalmasabb módszer. A vizsgálatok

célvegyülete rendszerint a Δ^9 -THC-COOH. Egyéb kannabinoidok¹ vizeletben történő azonosításáról is beszámoltak. A legfontosabb extrakciós eljárások a FFE és a SPE. Műszeres elemzésre HPLC/UV, HPLC/DAD, GC/MS és HPLC/MS eljárások terjedtek el. A kivonatok gázkromatográfiás elemzése esetén nélkülözhetetlen a Δ^9 -THC-COOH-ból acil-, alkil-, vagy szilil-származékot képezni. A HPLC-nél elsősorban fordított fázisú rendszereket alkalmaznak (C8, C18).

2. A munka célkitűzései

Az igazságügyi szakértői munka színvonalának és megbízhatóságának növelése érdekében, a munkahelyi igényeknek megfelelően az alábbi célok kerültek megfogalmazásra:

1. Túlnyomásos rétegekromatográfiás (OPLC) módszerek kidolgozása, amelyekkel nagy mintakapacitással megvalósítható a Δ^9 -THC, CBN, CBD, CBC és CBG minőségi és pontos mennyiségi vizsgálata a kender-eredetű növényi drogokban, tekintettel arra, hogy a jelenleg ismert, kellő mintakapacitású OPLC-módszerek nem biztosítanak alapvonal-elválasztást minden kritikus pár esetén.

2. Olyan érzékeny, pontos és precíz, szilárd fázisú extrakciót követő GC/MS módszer kifejlesztése a Δ^9 -THC, 11-OH- Δ^9 -THC és Δ^9 -THC-COOH humán vérben történő meghatározására, amely segít a bódult állapotban történő gépjárművezetéssel kapcsolatos rendőrségi ügyek elbírálásában, tekintettel arra, hogy a szakirodalomban ismert eljárások vagy túl hosszadalmasak, vagy extrakciós visszanyerésük alacsony.

3–5. A Δ^9 -THC-n és metabolitjain kívül egyéb savas és neutrális karakterű kannabinoidok és kannabinoid-metabolitok jelenlétének tanulmányozása Cannabis-használók vizeletében, amelyeknek diagnosztikus szerepük lehet az igazságügyi analitikai gyakorlatban. Ezen belül a Δ^9 -THC-COOH és a Δ^9 -THCV-COOH arányának összehasonlítása két különböző földrajzi helyről származó vizeletminta-halmaznál, valamint a CBG, illetve metabolitjainak azonosítása a Cannabis-használók vizeletében.

3. Alkalmazott módszerek

A **növényi részek** extrakciójánál a mintát metanol–kloroform eleggyel extraháltam. A szárazra párolt kivonatot az extraháló oldószerben oldottam fel.

¹ pl. 11-nor- Δ^9 -tetrahydrokannabivarin-9-karbonsav (Δ^9 -THCV-COOH)

A **vérmintákat** acetonitrillel fehérjementesítettem és extraháltam, a felülúszó szilárd fázisú extrakcióját foszforsavoldattal történő hígítás után C18-as módosítású szilikagél töltettel végeztem. Az elúciót *n*-hexán/etil-acetát eleggyel végeztem.

A **savas karakterű kannabinoidok vizeletből** történő kinyerését lúgos hidrolízis előzte meg. A kannabinoidokat savas közegből *n*-hexán/etil-acetát eleggyel extraháltam. **Neutrális karakterű kannabinoidok** vizsgálatokor azok konjugátumait 6,8-as pH-n β -glükuronidázzal hidrolizáltam. Az extrakciót lúgos közegből *n*-hexán/etil-acetát eleggyel végeztem. Az enzimesen hidrolizált minták egy részénél savas extrakciót is végeztem.

A száraz **vér- és vizeletkivonatok** egy részét **metanolban** oldottam fel. A többi kivonathoz **származékképzéshez** *N*-metil-*N*-(trimetilszilil)-trifluoroacetamidot, *N*-(*tert*-butil-dimetilszilil)-*N*-metil-trifluoroacetamidot vagy *N,N,N*-trimetilanilinium-hidroxidot alkalmaztam.

A **növényi kivonatok** OPLC-elemzését amino-módosított szilikagél HPTLC-lapon vagy szilikagél HPTLC-lapon végeztem. Az első módszernél Personal OPLC BS50 típusú készülékkel, diklórmetán mozgófázissal és kétirányú kifejlesztéssel, a másodikonál Chrompres 25 készüléken dolgoztam, az elválasztást több oldószer felhasználásával, oldószer váltás, és túlfuttatás alkalmazásával optimalizálva. A denzitogramokat Desaga CD 60 slit scanner készülékkel vettem fel 200 nm-es hullámhosszon.

Kannabinoidok **vérben** történő meghatározását Shimadzu GCMS QP5000 készülékkel végeztem. Kannabinoid-karbonsavak esetén **vizeletben** Varian STAR 3400/Varian MS Saturn 2000 ioncsapdás GC/MS-el dolgoztam. Neutrális kannabinoidok vizeletben történő meghatározásánál Shimadzu GCMS-2010 Plus GC/MS-t alkalmaztam. Minden esetben splitless módban injektáltam, és HP-1MS kapilláris kolonnát használtam.

4. Eredmények

1/a. Megterveztem és validáltam neutrális kannabinoidok (Δ^9 -THC, CBD, CBN, CBG és CBC) OPLC-elválasztását, illetve kimutatását és mennyiségi meghatározását kendermintákban amino-módosított HTPLC rétegen diklórmetán kifejlesztőszerrel. Minden pár esetén legalább 0,8-as kromatográfiás felbontást értem el. A retenciós faktorok (R_F) szórása 6,5 % alatt volt. A kalibrációs egyenesek regressziós koeficiensei meghaladták a 0,99-et. A jel/zaj arány minden komponensnél elérte a 3,0-t 50 ng felvitt anyag esetén (kimutatási határ). A kifejlesztésen belüli precizitás minden esetben 4,3 % alatt, a vizsgálat reprodukálhatósága 5,3 % alatt volt. A visszanyerés átlagosan 92–98 % volt. **Egyidejűleg 30 mintát analizáltam 4 percen belül.** A vizsgált minták CBC-tartalma 0,02–0,24 %, CBG-

tartalma 0,01–0,08 %, CBN-tartalma 0,01–0,30 %, Δ^9 -THC-tartalma 0,02–3,54 %, végül CBD-tartalma 0,00–0,59 % közé esett.

1/b. Szilikagél HPTLC állófázisra egy alternatív OPLC-módszert optimalizáltam, melynek során lépcsőgradiens segítségével választottam el a fenti neutrális kannabinoidokat. Első lépésben összesen 25 tiszta oldószert, illetve 25 *n*-hexánnal elegyített oldószerek keverékét próbáltam ki telítetlen normál kamrai kifejesztések során. Ezek közül kettőt választottam ki további optimalizálásra szelektivitásuk alapján: a kloroformot és a metil-etil-kezon/*n*-hexán (1:9, v/v) elegyét. OPLC-kifejesztések során utóbbinál optimalizáltam a *n*-hexán-összetételt. A végső, optimális elválasztást 0,6 ml kloroform, majd 5,7 ml metil-etil-kezon/*n*-hexán (3,5/96,5; v/v) elegy alkalmazásával, lépcsős (pillanatszerű) oldószerváltással és a második eluens túlfuttatásával értem el. Az oldószerváltás pontja a kloroform 30 mm-es migrációs távolságának felelt meg. A kifejesztés ideje 21 perc volt. Módszeremet összehasonlítottam nem túlfuttatott OPLC-kifejesztésekkel, melyeknél nagyobb felbontású és szelektívebb elválasztást mutatott. **A kannabinoidok páronkénti felbontása minden esetben meghaladta a 1,9-t** [$R_S=2,0$ volt a kritikus pár (CBG–CBC) esetén].

2. A tetrahidrokannabinoidok humán vérben, GC/MS módszerrel történő meghatározásának validálása során igazoltam a módszer szelektivitását: a vak mintákban nem találtam interferenciát okozó komponenst. A kimutatási határ Δ^9 -THC-nál 0,6 ng/ml, a 11-OH- Δ^9 -THC-nál 0,2 ng/ml, a Δ^9 -THC-COOH-nál 1,4 ng/ml volt. A kalibráció során a lineáris illesztés korrelációs koefficiense minden esetben 0,999 volt. A mennyiségi meghatározás 10 és 50 ng/ml-en vizsgált relatív precizitása 1,1–5,3 %, a torzítatlansága 101–104 % volt. **Az eljárás extrakciós visszanyerése 10 ng/ml-nél a három célvegyület esetén 85–99 % között volt.**

3. A Δ^9 -THCV-COOH azonosságát indirekt úton igazoltam. A Δ^9 -THC-COOH-ból és a feltételezett Δ^9 -THCV-COOH-ból *bisz(O-TMS)*-származékokat állítottam elő, majd összehasonlítottam a két homológ *O-TMS*-származék fragmentációját. Tanulmányoztam a Δ^9 -THCV-COOH-nak Δ^9 -THC-COOH-hoz viszonyított relatív mennyiségét. Ehhez a megfelelő komponensek csúcsterület-arányait számoltam ki. A relatív tapasztalati szórás számításával és regressziós analízissel validáltam a Δ^9 -THC-COOH/ Δ^9 -THCV-COOH-arány alkalmazását, amely időben és a mintahígítással szemben stabilnak bizonyult. **A Δ^9 -THC-COOH/ Δ^9 -THCV-COOH-arányt ezután 35 Magyarországról, illetve 67 Portugáliából származó, Δ^9 -THC-COOH-pozitív vizeletminta esetében határoztam meg.** Logaritmikus transzformálás után Kolmogorov–Smirnov-tesztel igazoltam az arány-értékeknek a mintahalmazokon belüli

log-normális eloszlását. Ezt követően F-próbával bizonyítottam, hogy a két normalizált eloszlás varianciája legalább 95 %-os konfidencia-szinten különbözött. Mivel a variancia-értékek különbözőek voltak, heteroscedasztikus T-próbával hasonlítottam össze a két adatsor átlagértékét. A teszt szerint a H_0 hipotézis, mely szerint az átlagértékek közötti különbség 0, már 99,999 %-os konfidencia-szinten elvethető volt.

4/a. Kannabigerol és feltételezett metabolitjának *Cannabis*-fogyasztók vizeletében történő kimutatásához a magas Δ^9 -THC-COOH-koncentrációjú vizeletmintákat választottam ki. **A glükuronidázzal hidrolizált minták egy részében CBG-t azonosítottam.** A CBG azonosítása EI tömegspektrum és retenciós idő alapján történt származékolatlan anyavegyület formájában, ill. *bisz*-trimetilszilil-, *bisz*(*O*-TBDMS)- és *bisz*-metil-származékként. A CBG nem volt kimutatható a vak, ill. az egyéb kannabinoidokkal spike-olt vizeletmintában, ill. a *Cannabis*-fogyasztó enzimesen nem hidrolizált vizeletmintájában. A CBG koncentrációját 38 *Cannabis*-fogyasztó vizeletmintájában határoztam meg. Az átlagos detektorjelhez tartozó koncentráció 31 ng/ml volt.

4/b. A hidrolizált, majd trimetilszililezett minták GC/MS-kromatogramjainak elemzése során **egy olyan komponens jelenlétére figyeltem fel**, amely csak azon *Cannabis*-fogyasztók vizeletében jelent meg, amelyek CBG-re is pozitívak voltak, de nem volt jelen sem a vak vizeletben, sem az egyéb kannabinoiddal spike-olt mintákban, sem pedig a *Cannabis*-fogyasztóktól származó, enzimatikusan nem hidrolizált vizeletmintákban. A jellemző fragmensionok és azok arányai alapján, a CBG *in vitro* metabolitjait bemutató szakirodalmi adatokra támaszkodva a vegyület feltételezésem szerint vagy a **4''-hidroxi-CBG vagy az 5''-hidroxi-CBG** volt. Az OH-csoport helyének egyértelmű meghatározását referencia-anyagok hiányában nem tudtam elvégezni. A problémára indirekt módon kerestem választ, ezért a kimutatott metabolit egyes származékainak elemeztem a tömegspektrumait. A GC/MS-mérések során a **CBG-OH szilil-származékai közül az a kettő**, ahol a szóban forgó (4''- vagy 5''-) OH-csoport is trimetilszilileződött, **jól detektálható metil-vesztést mutatott [M- \bullet CH₃]⁺**. További összehasonlító vizsgálataimhoz kiválasztottam két modellvegyületet, a 4-fenil-1-butanolt és a 4-fenil-2-butanolt, amelyek tartalmazzák a kérdéses szerkezetű molekularész két lehetséges formáját (láncvégi, ill. 2-es helyzetű hidroxil-csoport). A 4-fenil-1-butanol *O*-TMS-származéka intenzív m/z 104-es fragmensionnal rendelkezett, a 4-fenil-2-butanol *O*-TMS-származéka esetében viszont az m/z 117-es fragmens relatív intenzitása volt

nagyobb. Az OH-CBG kétféle szililezett származékánál² a két fenti fragmension közül az m/z 117-es fragmension-csúcs relatív intenzitása nagyobb volt a 104-eshez képest.

5. A CBG kimutatására alkalmazott GC/MS-módszert kiterjesztettem egyéb kannabinoidok³ vizsgálatára is 58 vizeletmintában. Pontos mennyiségi vizsgálatot nem végeztem, csak az egyes kannabinoidok legjellemzőbb ionfragmenseinek csúcsait integráltam, az így kapott területértékeket logaritmizáltam, egymás függvényében ábrázoltam, majd lineáris regresszió-analízist végeztem. Azt tapasztaltam, hogy a CBG mennyisége a vizsgált egyéb kannabinoidéval korrelációt mutatott.⁴

5. Következtetések

1/a. Neutrális kannabinoidok⁵ nagy kapacitású, gyors és szelektív OPLC-elválasztása megvalósítható amino-módosított HPTLC rétegen, kétirányú kifejlesztéssel, amint azt a rendszer-alkamassági paraméterek igazolják. A módszer alkalmas lefoglalt kenderminták szabad Δ^9 -THC-tartalmának a meghatározására. A további neutrális kannabinoidok meghatározásával következtetni lehet a növényfajra (alfajra, típusra). A vizsgált minták két csoportba voltak sorolhatók: nagy Δ^9 -THC-tartalmú marihuána-mintákra, illetve nagy CBD-tartalmú kendermintákra. **A módszerek fő újítása a speciális kétirányú kifejlesztés,** melynek során a réteg két távolabbi oldala felől a középvonal felé megvalósított kifejlesztés nem eredményezte a frontok túlfutását, mivel a túlnyomás-érzékelő automatikusan leállította a mozgófázis áramoltatását. Ezáltal nőtt meg a mintakapacitás is: akár 30 minta egyidejű analízisét teszi lehetővé 190 másodperc alatt.

1/b. A HPTLC szilikagél állófázisra optimalizált OPLC-módszerrel, lépcsőgradiens és túlfuttatás segítségével nagy felbontással választhatók el a főbb neutrális kannabinoidok⁵. A módszer alkalmas lefoglalt marihuána-minták extraktumainak elemzésére. A módszer számos újítást tartalmaz (újszerű eluens-összetétel, oldószer váltás, túlfuttatásos kifejlesztés).

2. A munkám során validált GC/MS módszerrel vérmintákból kimagasló visszanyeréssel kivonható, valamint kellő érzékenységgel **kimutatható** és nagy

² *trisz(O-TMS)*-, ill. *bisz(O-TBDMS)-mono(O-TMS)*-származékok

³ CBD, CBN, Δ^9 -THC, 11-OH- Δ^9 -THC, Δ^9 -THCV-COOH, Δ^9 -THC-COOH

⁴ A korreláció a Δ^9 -THC-vel volt a legnagyobb ($r^2=0,71$), és a Δ^9 -THC-COOH esetén a legalacsonyabb ($r^2=0,21$).

⁵ Δ^9 -THC, CBD, CBN, CBG és CBC

pontossággal **menyiségileg meghatározható a Δ^9 -THC, 11-OH- Δ^9 -THC és a Δ^9 -THC-COOH**. Módszerem teljesíti a GTFCh előírásait⁶, emellett megfelelő helyesség-, precizitás- és más módszerekhez képest kiemelkedő visszanyerés-értékeket és jó linearitást értem el. Az egyes rendőrségi ügyek esetében mért koncentráció-értékek jó összhangban voltak a vérmintavétel során észlelt klinikai tünetekkel. A módszert az OTI akkreditált rutinmódszerként alkalmazza évi több száz minta elemzésére.

3. Két, eltérő földrajzi helyről származó vizeletminta-halmazt Δ^9 -THC-COOH/ Δ^9 -THCV-COOH-arány alapján összehasonlítva megállapítottam, hogy az eloszlások átlagértékei adott konfidencia-szinten **szignifikánsan különböztek**. A különbözőség oka feltehetően az, hogy a két földrajzi helyen hozzáférhető marihuána eltérő Δ^9 -THC/ Δ^9 -THCV-aránnyal rendelkezett. A vizeletminták kannabinoid-profiljának elemzésével tehát közvetett módon az elfogyasztott kábítószerre vonatkozó következtetés vonható le.

4/a. A vizeletvizsgálatok azt mutatják, hogy a **CBG bejut az emberi szervezetbe a *Cannabis* szívása során, vizeletben kimutatható, és konjugált formában, jórészt glükuronidként ürül ki.**

4/b. *Cannabis*-fogyasztók hidrolizált vizeletének kivonatában **kimutatható a CBG egyik monohidroxilált metabolitja**. Erről szakirodalmi adatok, valamint tömegspektrometriás elemzéseim (kétféle *O*-TMS-származék metil-vesztése, illetve modellvegyületek fragmentációjával való összehasonlítás) alapján **feltételezem, hogy a 4'-hidroxi-CBG-vel azonos**, annak ellenére, hogy nem rendelkeztem a lehetséges metabolitok referencia-anyagaival. Ez a metabolit nagyrészt **szintén glükuronid formájában ürül ki a szervezetből**.

5. Savas karakterű és neutrális kannabinoidok együtt is vizsgálhatók, és ki is mutathatók a *Cannabis*-fogyasztók vizeletében. A kannabinoidok egymáshoz viszonyított aránya („kannabinoid-spektrum”) a vizsgált közel 50 vizeletmintában nagy variabilitást mutatott.

⁶ Mindhárom tetrahidrokannabinoid meghatározására alkalmas és az LOD-értékek 1,5 ng/ml-nél alacsonyabbak.

6. Az értekezés alapjául szolgáló, impakt faktoros közlemények

1. Szabady, B.; **Hidvégi, E.**; Nyiredy, Sz. (2002): Determination of neutral cannabinoids in hemp samples by overpressured-layer chromatography. *Chromatographia Suppl.* 56, S165-S168. **Impakt faktor (IF)=1,230**
2. **Hidvégi, E.**; Somogyi, G. P. (2010): Detection of cannabigerol and its presumptive metabolite in human urine after *Cannabis* consumption. *Die Pharmazie* 65: 408-411. **IF=0,869**

7. Az értekezés alapjául szolgáló egyéb közlemények

1. **Hidvégi, E.**; Szabady, B. (2002): Some aspects of OPLC development using mobile phase switching. Proceedings of the 8th International Symposium on Separation Sciences, Toruń, Poland, 8-12 September.
2. **Hidvégi, E.** (2005): Fontosabb tetrahidrokannabinoidok meghatározása humán vérplazmában gázkromatográf-tömegspektrometriás módszerrel. Záródolgozat, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki Kar.
3. **Hidvégi, E.**; Kerner, Á.; Mikó-Hideg, Zs.; Somogyi, G. (2005): Determination of main tetrahydrocannabinoids in human plasma by use of GC/MS. 6th Balaton Symposium on High Performance Separation Methods, Siófok, Hungary, 7-9 September.
4. **Hidvégi, E.**; Penczi, E.; Hideg, Zs.; de Boer, D.; Somogyi, G. (2006): Analysis of certain cannabinoid metabolites in urine samples from Hungary by GC/MS after alkaline and enzymatic hydrolysis. TIAFT 44th International Meeting, Ljubljana, Slovenia, 26 August-1 September.
5. **Hidvégi, E.**; Hideg, Zs.; Somogyi, G. P. (2007): Identification of cannabigerol in human urine after *Cannabis* consumption. 7th Balaton Symposium on High Performance Separation Methods, In Memoriam Szabolcs Nyiredy, Siófok, Hungary, 5-7 September.

8. Az értekezés témájában megjelent további publikációk

1. **Hidvégi, E.**; Perneczki, S.; Forstner, M. (2000): Data on the chromatographic behaviour of solvent mixtures with similar solvent strength and selectivity. *J. Planar Chromatogr.* 13, 414-419. **IF=1,118**
2. de Boer, D.; Bosman, I. J.; **Hidvégi, E.**; Manzoni, C.; Benkő, A. A.; dos Reys, L. J. A. L.; Maes, R. A. A. (2001): Piperazine-like compounds: a new group of designer drugs-of-abuse on the European market. *Forensic Sci. Int.* 121: 47-56. **IF=1,520**
3. **Hidvégi, E.**; Fábrián, P.; Hideg, Zs.; Somogyi, G. (2006): GC-MS determination of amphetamines in serum using on-line trifluoroacetylation. *Forensic Sci. Int.* 161: 119-123. **IF=1,397**
4. **Hidvégi, E.**; Hideg, Zs.; Somogyi, G. P. (2008): Different reactivity of amphetamines with N-methyl-bis(trifluoroacetamide) in heated gas chromatographic injectors. *Die Pharmazie* 63: 233-234. **IF=0,858**
5. Dobos, A.; **Hidvégi, E.**; Somogyi, G. P. (2012): Comparison of five derivatising agents for the determination of amphetamine type stimulants in human urine by extractive acylation and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* 36: 340-344. **IF=2,022**

