

Új eljárások természetes és szintetikus kábítószeraminok meghatározására

Doktori értekezés

Molnár Borbála

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Perlné Dr. Molnár Ibolya, D.Sc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Ludányi Krisztina, Ph.D., egyetemi docens

Vitányiné Dr. Morvai Magdolna, Ph.D.,
minőségirányítási vezető

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Klebovich Imre, D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Csörgeiné Dr. Kurin Krisztina, Ph.D.,
egyetemi docens

Dr. Órfi László, Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2016

Tartalom

Rövidítések	4
1. Bevezetés	8
1.1 A PFAA-szerkezetű kábítószeres és a CTN-típusú dizájnerdrogok jellemzése.....	10
1.1.1 Szintetikus pszichostimulánsok: AM és MDA.....	10
1.1.2 A <i>Lophophora williamsii</i> hallucinogén alkaloidja: MSC.....	11
1.1.3 A <i>Catha edulis</i> természetes pszichostimulánsai: CTN és CAT.....	13
1.1.4 A CTN-típusú dizájnerdrogok	15
1.2 A PFAA-szerkezetű kábítószeres és a CTN-típusú dizájnerdrogok koncentrációjának meghatározása biológiai mintákban, GC-MS alkalmazásával	16
1.2.1 Meghatározás származékképzés nélkül, a vegyületek eredeti alakjában	17
1.2.2 Meghatározás acilezett származékokként (akirális származékképző reagensekkel)	19
1.2.3 Meghatározás szililezett származékokként.....	23
1.2.4 Meghatározás egyéb származékokként.....	32
2. Célkitűzések.....	38
3. Módszerek.....	39
3.1 A kémszerek.....	39
3.2 A vizsgált minták	39
3.3 Az eszközök	39
3.3.1 A minta-előkészítés eszközei.....	39
3.3.2 Az alkalmazott gázkromatográfias körülmények	40
3.3.3 A tömegspektrométer működésének főbb jellemzői	40
3.4 Eljárások.....	41
3.4.1 A minta-előkészítés vegyszerei	41
3.4.2 A modelloldatok	42
3.4.3 A származékká alakítás.....	42
3.4.4 A vizeletminták előkészítése	42

3.4.4.1 A vizeletminták kábítószer tartalmának meghatározása LLE dúsítást követően.....	42
3.4.4.2 A vizeletminták kábítószer tartalmának meghatározása előzetes extrakció nélkül.....	43
3.4.5 A növényminták előkészítése.....	43
3.4.5.1 A <i>Lophophora williamsii</i> minta extrakciója.....	43
3.4.5.2 A <i>Lophophora williamsii</i> és a <i>Catha edulis</i> minták kábítószer tartalmának meghatározása, a vegyületek előzetese kivonása nélkül.....	44
3.4.6 A lineáris tartományok és az LOQ értékek meghatározása.....	44
4. Eredmények.....	46
4.1 Bevezető vizsgálatok: az MSC származékképzési tanulmánya.....	46
4.2 Az új acilezési eljárás részleteinek feltárása.....	47
4.2.1 Az új reakció szerkezeti feltételei.....	48
4.2.2 A megfelelő reagensarány és oldószer, valamint a reakció optimális hőfokának és idejének meghatározása.....	48
4.2.3 A HMDS+TFE reagenspáros egyik vagy másik tagjának cseréje, elhagyása.....	50
4.2.4 Az új eljárással képzett acilezett termékek tömegspektrumainak elemzése.....	50
4.2.5 Az új reakció feltételezett mechanizmusa.....	57
4.2.6 Az új acilezési reakció értékelése.....	60
4.3 A PFAA-vegyületek TMS-származékká alakítása.....	61
4.3.1 A 2TMS-származékká alakítás optimális körülményeinek feltárása.....	62
4.3.2 Az AM és az MDA származékképzési tanulmánya.....	64
4.3.3 Az új szililező eljárás értékelése.....	69
4.4 A <i>Catha edulis</i> cserje khataminjainak meghatározása.....	72
4.4.1 A khataminok származékképzési tanulmánya.....	72
4.4.2 A khataminok meghatározására alkalmas új eljárás értékelése.....	77
4.4.3 Közelítés a "zöld kémia" irányába: a minta-előkészítés egyszerűsítése.....	78

4.5 A CTN-típusú dizájnerdrogok meghatározása.....	80
4.5.1 A CTN-típusú dizájnerdrogok származékképzési tanulmánya.....	81
4.5.2 A TMS-oxim származékok tömegspektrumainak elemzése.....	86
4.5.3 A CTN-típusú dizájnerdrogok koncentrációjának meghatározása vizeletmátrixban, a minták előzetes dúsítása nélkül.....	87
4.5.4 Az eljárás értékelése	89
5. Megbeszélés.....	90
6. Következtetések.....	91
7. Összefoglalás	93
8. Summary.....	94
9. Irodalomjegyzék	95
10. Saját publikációk	108
11. Köszönetnyilvánítás.....	109

Rövidítések

2-(3,4-DiM)PEA	2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethylamine; 2-(3,4-dimetoxifenil)etilamin; homoveratrilamin
2-MMPEA	2-(<i>m</i> -methoxyphenyl)ethylamine; 2-(<i>m</i> -metoxifenil)etilamin
2-PEA	2-phenylethylamine; 2-feniletilamin
2-PMPEA	2-(<i>p</i> -methoxyphenyl)ethylamine; 2-(<i>p</i> -metoxifenil)etilamin
2TMS	ditrimethylsilyl; ditrimetilszilil
3,4-DMMC	3,4-dimethylmethcathinone; 3,4-dimetilmetkatinon
3-PPA	3-phenylpropylamine; 3-fenilpropilamin
4-Br-(2,5-DiM)PEA	2-(4-bromo-2,5-dimethoxyphenyl)ethylamine; 2-(4-bromo-2,5-dimetoxifenil)etilamin
4-EMC	4-ethylmethcathinone; 4-etilmetkatinon
4-FMC	4-fluoromethcathinone; 4-fluormetkatinon
4-HA	4-hydroxyamphetamine; 4-hidroxiamfetamin
4-HMA	4-hydroxymethamphetamine; 4-hidroximetamfetamin
4-MA	4-methoxyamphetamine; 4-metoxiamfetamin
4-MEC	4-methylethcathinone; 4-metiletkatinon
4-MMA	4-methoxymethamphetamine; 4-metoximetamfetamin
4-MMC	4-methylmethcathinone; 4-metilmetkatinon; mefedron
4-PBA	4-phenylbuthylamine; 4-fenilbutilamin
AA	acetic anhydride; ecetsav-anhidrid
ACN	acetonitrile; acetonitril
AM	amphetamine; amfetamin
ATS	amphetamine-type stimulants; amfetamintípusú stimulánsok
BA	benzylamine; benzilamin
BDB	1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine; 1-(1,3-benzodioxol-5-íl)-2-butánamin
BSTFA	<i>N,O</i> -bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide; <i>N,O</i> -bis(trimetilszilil)trifluoroacetamid
ButAc	buthyl-acetate; butil-acetát
CAT	cathine; katin
CTN	cathinone; katinon
DCM	dichloromethane; diklórmetán
DEE	diethylether; dietiléter
DHNKT	dihidronorketamine; dihidronorketamin
DIEP	diethylpropion; dietilpropion
DLLME	dispersive liquid-liquid microextraction; diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció

DSEL	desmethylselegiline; dezmetilszelegilin
E	ephedrine; efedrin
EtAc	ethyl-acetate; etil-acetát
FEN	fenproporex
FFA	fenfluramine; fenfluramin
FS	full scan; pásztázó üzemmód
GC	gas chromatography; gázkromatográfia
GC-MS	gas chromatography-mass spectrometry; gázkromatográfia-tömegspektrometria
GC-MS/MS	gas chromatography-tandem mass spectrometry; gázkromatográfia-tandem tömegspektrometria
HFB	heptafluorobutyryl; heptafluorobutiril
HFBA	heptafluorobutyric acid; heptafluorovajsav
HFBA	heptafluorobutyric acid anhydride; heptafluorovajsav-anhidrid
HFBCl	heptafluorobutyryl-chloride; heptafluorobutiril-klorid
HF-LPME	hollow fiber liquid phase microextraction; üreges üvegszállal végzett folyadék fázisú mikroextrakció
HHA	3,4-hydroxyamphetamine; 3,4-hidroxiamfetamin
HHMA	3,4-hydroxymethamphetamine; 3,4-hidroximetamfetamin
HMA	4-hydroxy-3-methoxyamphetamine; 4-hidroxi-3-metoxiamfetamin
HMDS	hexamethyl-disilazane; hexametil-diszilazán
HMMA	4-hydroxy-3-methoxymethamphetamine; 4-hidroxi-3-metoximetamfetamin
HOA-HCl	hydroxylamine-hydrochloride; hidroxilamin-hidroklorid
HS	headspace; gőztéranalízis
IE	integrátor egység
ILQ	instrumental limit of quantitation; a készülék meghatározási határa
inj.	injection; injekció
i-PrOH	<i>iso</i> -propanol
KT	ketamine; ketamin
LLE	liquid-liquid extraction; folyadék-folyadék extrakció
LOQ	limit of quantification; meghatározhatósági határ
LOD	limit of detection; kimutatási határ
<i>m/z</i>	mass number/charge number; tömeg/töltés
MA	methamphetamine; metamfetamin
MBDB	<i>N</i> -methyl-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine; <i>N</i> -metil-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-butánamin
MBTFA	<i>N</i> -methyl-bis-trifluoroacetamide; <i>N</i> -metil-bisz-trifluoroacetamid
MCTN	methcathinone; metkatinon

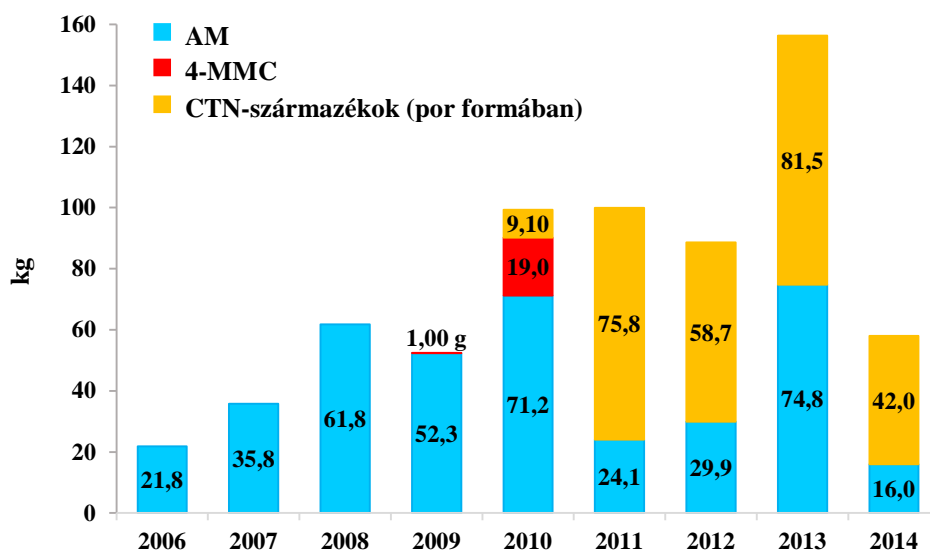
MDA	3,4-methylenedioxyamphetamine; 3,4-metiléndioxiamfetamin
MDMA	3,4-methylenedioxymethamphetamine; 3,4-metiléndioximetamfetamin
Me	methyl; metil (CH ₃ -)
ME	methylephedrine; metilefedrin
MeOH	methanol; metanol
MEPS	microextraction by packed sorbent; mikroextrakció fecskendőbe töltött szorbenssel
MH	mikrohullám
MISPE	molecularly imprinted solid phase extraction; molekuláris lenyomatú polimerrel végzett szilárd fázisú extrakció
MMBA	<i>m</i> -methoxybenzylamine; <i>m</i> -metoxibenzilamin
MOA-HCl	methoxyamine-hydrochloride; metoxiamin-hidroklorid
MPE	micropulverized extraction; mikorporlasztásos extrakció
MS	mass spectrometry; tömegspektrometria
MS/MS	tandem mass spectrometry; tandem tömegspektrometria
MSC	mescaline; meszkalin; 2-(3,4,5-trimetoxifenil)etilamin,
MSTFA	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(trimethylsilyl)trifluoroacetamide; <i>N</i> -metil- <i>N</i> -(trimetilszilil)trifluoroacetamid
MSTFA^{TMIS}	ammónium-jodid és etántiol reakciójában <i>in situ</i> keletkező, TMIS aktiválta MSTFA; MSTFA/TMIS = 1000/2 (v/v)
MTBSTFA	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> - <i>terc</i> .-buthyldimethylsilyl-trifluoroacetamide; <i>N</i> -metil- <i>N</i> - <i>terc</i> .-butildimetilszilil-trifluoroacetamid
NCI	negative chemical ionization; negatív kémiai ionizáció
NE	norephedrine; norefedrin
NIST	National Institute of Standards and Technology; Nemzeti Műszaki és Szabványügyi Intézet (USA)
NKT	norketamine; norketamin
OMBA	<i>o</i> -methoxybenzylamine; <i>o</i> -metoxibenzilamin
PBTFCI	<i>o</i> -(pentafluorobenzoyloxycarbonyl)-2,3,4,5-tetrafluorobenzoyl- chloride; <i>o</i> -(pentafluorobenziloxikarbonil)-2,3,4,5- tetrafluorobenzoil-klorid
PCI	positive chemical ionization; pozitív kémiai ionizáció
PE	pseudoephedrine; pszeudoefedrin
PENT	pentedrone; pentedron
PFAA	primer fenilalkilamin
PFBCI	pentafluorobenzoyl-chloride; pentafluorobenzoil-klorid
PFOCI	pentafluorooctanoyl-chloride; perfluorooktanoil-klorid
PFPP	pentafluoropropionyl; pentafluoropropionil
PFPA	pentafluoropropionic acid; pentafluoropropionsav
PFPA	pentafluoropropionic acid anhydride; pentafluoropropionsav-anhidrid

PFPOH	pentafluoro-1-propanol
PM	phenmetrazine; fenmetrazin
PMBA	<i>p</i> -methoxybenzylamine; <i>p</i> -metoxibenzilamin
PNE	pseudonorephedrine; pszeudonorefedrin
PPAA	primary phenylalkylamine; primer fenilalkilamin
PrAc	propyl-acetate; propil-acetát
PrCF	propyl-chloroformate; propil-kloroformát
PT	phentermine; fentermin
PYR	pyridine; piridin
R²	determination coefficient; determinációs együttható
R-MTPCI	<i>R</i> - α -methoxy- α -(trifluoromethyl)phenylacetyl-chloride; <i>R</i> - α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilacetil-klorid
RSD	relative standard deviation; relatív standard deviáció
S,R-HFBOPCI	<i>2S,4R-N</i> -heptafluorobutyryl-4-heptafluorobutoyloxypropyl-chloride; <i>2S,4R-N</i> -heptafluorobutiril-4-heptafluorobutoiloxipropil-klorid
SEL	selegiline; szelegilin
SFI	selective fragment ion; szelektív fragmentumion
S-HFBPCI	<i>S</i> -heptafluorobutyrylpropyl-chloride; <i>S</i> -heptafluorobutirilpropil-klorid
SIM	selected ion monitoring; szelektív ion monitorozás
SPE	solid phase extraction; szilárd fázisú extrakció
SPME	solid phase microextraction; szilárd fázisú mikroextrakció
S-TFAPCI	<i>S</i> -trifluoroacetylpropyl-chloride; <i>S</i> -trifluoroacetilpropil-klorid
TBDMCS	<i>terc.</i> -buthyldimethylchlorosilane; <i>terc.</i> -butildimetilklórszilán
TBME	<i>terc.</i> -buthylmethylether; <i>terc.</i> -butilmetiléter
TEA	triethylamine; trietilamin
TFA	trifluoroacetyl; trifluoroacetil
TFAA	trifluoroacetic acid anhydride, trifluoroecetsav-anhidrid
TFE	trifluoroacetic acid; trifluoroecetsav
TMCS	trimethylchlorosilane; trimetilklórszilán
TMIS	trimethyliodosilane; trimetiljódzilán
TMS	trimethylsilyl; trimetilszilil
UH	ultrahang

1. Bevezetés

Az ENSZ Kábítószer-ellenőrzési és Bünmegelőzési Hivatalának jelentése szerint 2013-ban a 15-64 éves korosztály 5,2 %-a ($\pm 1,8$ %), 246 ($\pm 83,5$) millió ember fogyasztott kábítószer világszerte, az év során legalább egyszer [1]. A becült értékek tényszerű adatokon alapulnak, úgymint a kezelési (addiktológiai, toxikológiai, pszichiátriai) igények száma vagy a lefoglalt kábítószer mennyisége. Utóbbi ismeretében részletes képet kaphatunk egy adott terület kábítószerpiacáról. Az *1. ábrán* az AM, valamint a 4-MMC és más CTN-származékok magyarországi lefoglalásainak alakulását tüntetem fel (az összesítés a 2006 és 2014 közötti évek elkobzásait tartalmazza).

Az új, (fél)szintetikus dizájnerdrogok, amelyek a hatályos tiltólistákon szereplő vegyületektől szerkezetileg kis mértékben eltérnek, így nem esnek törvényi szabályozás alá, vagyis ellenőrzés alá vonásukig jogi következmények nélkül terjeszthetők, s ezért folyamatos kihívást jelentenek a kutatók és a bűnüldöző szervek számára. Magyarországon 2010 óta összesen 108, 2014-ben 42 dizájnerdrogot azonosítottak, elsősorban szintetikus AM-, CTN- (legtöbbet 2010-ben) és kannabinoid-típusú vegyületeket [2]. 2011 legjelentősebb kábítószerpiaci fejleménye a tiltólistára került 4-MMC eltűnése, s az azt felváltó, más CTN-típusú drogok (legnépszerűbb a PENT) elterjedése (*1. ábra*).



1. ábra A Magyarországon lefoglalt kábítószeraminok mennyisége (kg) 2006 és 2014 között, a Nemzeti Drog Fókuszpont jelentései alapján [2]

A kábítószer-használat terjedése közegészségügyi és társadalmi gondok sokasodásával jár. Közülük egy, ritkán említett következmény: hasonlóan a terápiás felhasználású gyógyszerekhez, az illegális készítmények maradékai is megjelenhetnek természetes vizeinkben, elsősorban a sűrűn lakott települések vízi környezetének szennyezőiként [3]. A kutatók rendkívüli figyelmet fordítanak a kábítószer meghatározására növényi, biológiai, környezeti mintákban, valamint a lefoglalásra került tételekben. Az analitikusok a korábbiaknál mind érzékenyebb, szelektívebb, megbízhatóbb, reprodukálhatóbb és gyorsabb eljárások kidolgozására törekednek.

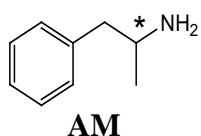
A GC-MS az egyik leggyakrabban alkalmazott technika összetett mátrixok szerves vegyületeinek azonosítására és mérésére [4], így a kábítószer-analitikában is kiemelt jelentőségű. A vegyületek illékonyága elengedhetetlen feltétele gázkromatográfiás meghatározásuknak. A származékképzés csökkenti a mérendő összetevők polaritását, egyúttal a keletkező termékek hőstabilitását, s gázfázisba juttatását eredményezi. A származékká alakítás jelentősen javítja a mérés érzékenységet és szelektivitását, valamint a szerkezetfelderítés hatékonyságát, így gyakran alkalmazzák kábítószer GC-MS meghatározását megelőzően, számolva azzal is, hogy a minta-előkészítés idejét és költségeit növeli.

Munkám célja az volt, hogy új minta-előkészítési (dúsítás, származékképzés) eljárásokat javasoljak növényi vagy biológiai mintákban található, PFAA-szerkezetű aminok – kitüntetett figyelemmel a kábítószer (AM, MDA, MSC, CTN, CAT) – és a CTN-típusú dizájnertdrogok (4-FMC, MCTN, PENT, 4-MEC, 3,4-DMMC, 4-EMC) elemzésére.

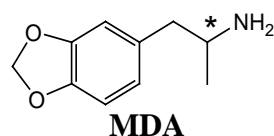
1.1 A PFAA-szerkezetű kábítószerek és a CTN-típusú dizájnertiterek jellemzése

1.1.1 Szintetikus pszichostimulánsok: AM és MDA

Az *S/R*-AM és az *S*-MDA (2.a ábra) egyrészt a központi idegrendszer erős izgatói (pszichostimulánsok), másrészt noradrenalin felszabadítás révén, a periférián ható szimpatomimetikumok [5]. A sztereoizomerek pszichoaktivitása eltérő, az *S*-AM 3-4-szer hatékonyabb stimuláns, mint *R* enantiomerje [5]; az *S*-MDA izgató, míg az *R*-MDA hallucinogén hatású [6].



M = 135,21



M = 179,22

2.a ábra Az AM és az MDA szerkezete és molekulatömegeik

Az AM-t L. Edeleanu, román vegyész szintetizálta először, 1887-ben, Berlinben [7]. A vegyület gyógyszerészeti jelentőségét négy évtizeddel később, 1927-ben ismerték fel [8]. A szert hatékonyan alkalmazták – az E, mint nehezen hozzáférhető hatóanyag helyettesítőjeként – asztma, szénanátha és ornyálkahártya-gyulladás kezelésére. Az AM éberséget, étvágytalanságot okoz, javítja a hangulatot és a koncentrációképességet, emeli a vérnyomást. E tulajdonságai miatt használták többek között narkolepszia, gyermekkori hiperaktivitás, depresszió, szívelégtelenség, alacsony vérnyomás gyógyítására. A spanyol polgárháborúban, majd a II. világháborúban a fizikális és szellemi teljesítőképesség fokozására, a repülőtsztek szolgálatban töltött idejének növelésére alkalmazták. Az AM és származékainak (ATS) illegális használata teljesítménynövelés céljából napjainkban is jellemző [5, 8]. Az ATS szerek népszerűségéhez hozzájárul, hogy alkalmazásuk dopamin-felszabadítás révén kellemes érzést okoz, s tartós szedésük során pszichés függés alakul ki [5].

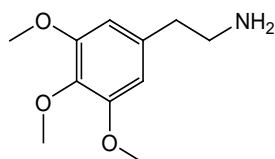
Az AM-t a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv *Amphetamini sulfas* néven tartalmazza, de gyógyszerként való alkalmazására napjainkban nincs példa hazánkban. A vegyületet a gyógyszerkutatókban referenciaként, más anyagok stimuláló hatásfokának megállapítása céljából használják [9].

Az AM 2/3-a a fogyasztást követő 24 órában ürül a szervezetből [10], mintegy 80 %-a változatlan formában távozik a vizelettel, megközelítőleg 20 %-a a májban metabolizálódik. Az ATS szerek lebontását aromás és alifás hidroxilezés, *N*-dealkilezés és -oxidáció, oxidatív dezaminálás vagy konjugáció jellemzi. Bázikus molekulákról lévén szó, a vizelet savanyítása (pH<7) gyorsítja kiürülésüket [8]. Számos molekula bomlástermékeként jelenthet meg AM vagy MDA a vizeletben, néhányat kiemelve: a metamfetamin [11], s a Parkinson-kór kezelésére használt, eredeti magyar gyógyszer, a SEL [12, 13] egy része AM-má, az MDMA MDA-vá metabolizálódik.

1.1.2 A *Lophophora williamsii* hallucinogén alkaloidja: MSC

A *Lophophora williamsii* (Lem. ex Salm-Dyck.) J. M. Coult. (peyote) a *Cactaceae* családba tartozó gömbkaktusz, amely a Rio Grande folyó partja mentén, Texas, Új-Mexikó és Mexikó felföldjein őshonos. A növényt, hallucinogén hatása miatt, ősidők óta fogyasztják a felsorolt területek lakói, elsősorban rituális szertartásokon. A XIX. század második felében, az amerikai polgárháborút kísérő migráció következtében, a peyote-fogyasztás elterjedt az USA-ban, majd később Európa szerte [8].

A peyote növény alkaloidjait A. Heffter, német kutató izolálta először, 1897-ben. Munkája során empirikus úton határozta meg a hallucinogén hatásért felelős összetevőt, s azt, a meszkaleró apacsok után – akitől a növényi minta származott – MSC-nek (2.b ábra) nevezte. A vegyületet E. Späth, osztrák vegyész szintetizálta először, 1919-ben [14, 15].



MSC

$$M = 211,26$$

2.b ábra Az MSC szerkezete és molekulatömege

A természetes/szintetikus MSC-t, illegális felhasználása mellett (a peyote kaktusz tartása és termesztése nem ütközik törvénybe), napjainkban hallucinogének hatásfokának becslésére alkalmazzák [8].

Az 1. táblázatban a peyote kaktuszban található MSC azonosítására és/vagy mérésére javasolt GC-MS eljárásokat összesítettem. A [16] közleményben *Lophophora williamsii* (≥ 100 mg) MSC-tartalmát határozták meg, ami szárított tömegre vonatkoztatott ~2 %-nak adódott. A [17] irodalomban egy ismeretlen eredetű, sötétzöld folyadékot (5 mL) analizáltak, amelyet egy kiskorú fürdőszobájában találtak. A vizsgálat során kiderült, hogy az MSC tartalmú minta peyote kaktuszból készült tea. Mindkét publikációban komplikált, időigényes extrakciós eljárásokat alkalmaztak (a minta-előkészítés részleteit az 1. táblázat tartalmazza).

1. táblázat Az MSC azonosítása növényi eredetű mintákban, GC-MS alkalmazásával

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)		
<i>Lophophora williamsii</i> / ≥ 100 mg	EtOH: 3×48 óra; vákuum; H ₂ O; pH 9 (NH ₄ OH); LLE ₁ : CHCl ₃ ; LLE ₂ : CHCl ₃ /EtOH (3/1); vákuum	-	GC-MS (FS)	[16]
	10% HCl: 15 perc víz- fürdő; szűrés; E _{szűrő} : DEE, vákuum			
<i>Lophophora williamsii</i> tea/5 mL	NaOH; pH 9,2; LLE: DCM/i-PrOH (9/1); szerves fázis N ₂	PFPA/PFPOH (5/3): 70 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc		[17]

Jelölések: ld. Rövidítések, valamint - = nincs adat; vákuum = oldószer elpárologtatása csökkentett nyomáson; N₂ = oldószer elpárologtatása N₂ áramban; E_{szűrő} = szűrő leoldása; % = tömeg (m/m) %; megjegyzés: amennyiben az ionizációs eljárás típusa nincs feltüntetve, elektronütköztetési ionizációt alkalmaztak

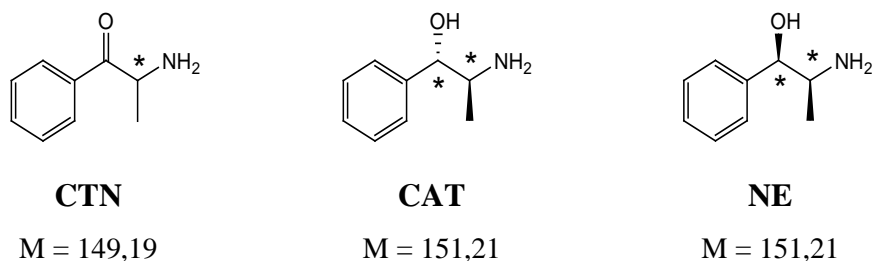
A peyote kaktuszon kívül más növényekben is található MSC, így többek között a *Lophophora diffusa* (Croizat) Bravo, *Echinopsis pachanoi* Britton & Rose (San Pedro-kaktusz) és más *Echinopsis* fajok (MSC tartalom 0,053-4,7 %, szárított tömegre vonatkoztatva [18]), valamint a *Pelcyphora aselliformis* Ehrenb. kaktuszfajoknak is protoalkaloidja [14]. Érdekesség, hogy két Acacia fajban (*Acacia berlandieri* Benth. [19], *Acacia rigidula* Benth. [20]) is találtak MSC-t. A kimutatást GC-MS eljárással végezték [19, 20]. Mindkét esetben rendkívül összetett, napokig tartó extrakció előzte meg az analízist.

1.1.3 A *Catha edulis* természetes pszichostimulánsai: CTN és CAT

A *Catha edulis* (Vahl) Forssk. ex Endl. (khat cserje) a *Celastraceae* családba tartozó örökzöld növény, mely Északkelet-Afrikában (Etiópia, Szomália), valamint az Arab-félszigeten (Jemen, Szaúd-Arábia) őshonos. A friss khat levelek élénkítő hatásúak, rágásuk évszázados hagyomány a nevezett tájegységeken, a helyiek elsősorban temetéseken, esküvőkön vagy más, kulturális és vallási ünnepségeken fogyasztják. A mindennapos khat-rágás különösen a jemeni férfiak körében népszerű [21].

A *Catha edulis* növényről P. Forskal, svéd botanikus írt először, egyiptomi-jemeni expedíciója során (1761-1763). 1887-ben F. A. Fluckiger és J. E. Gerock kísérletet tettek a növény élénkítő hatásáért felelős alkaloidjainak azonosítására. A detektált pszichoaktív összetevőt CAT-nak nevezték [21]. Később O. Wolfes *D*-norpszeudoefedrinként (*Ephedra distachya* L. ismert alkaloidja) azonosította ugyanezt a vegyületet [22]. Az *S*-CTN-t 1975-ben izolálták a növényből, az ENSZ Kábítószer Laboratóriumában (Szendrei K.) [21, 23].

A CAT és CTN az AM-hoz hasonló, pszichostimuláns vegyületek. A CTN, amelyet természetes AM-nak is neveznek, 7-10-szer hatékonyabb, mint a CAT, ám gyorsan bomlik (metabolitjai a CAT és a NE), így a maximális hatás elérése céljából friss hajtásokat ráganak a fogyasztók [21]. A CTN, CAT és NE vegyületeket khataminoknak nevezzük (szerkezeteik a 2.c ábrán láthatók).



2.c ábra A CTN, a CAT és a NE szerkezete és molekulatömegeik

A *Catha edulis* levelek (0,1-6 g) khatamintartalmának GC-MS meghatározása során [24-28] első lépésben szerves vagy szervetlen oldószerrel kivonták a szárított és aprított

2. táblázat A khataminok azonosítása *Catha edulis* (khat) mintákban, GC-MS alkalmazásával

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Khataminok	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)					
khat/5-6 g	MeOH: 15 perc UH; koncentrálás levegőárammal; 0,02 N H ₂ SO ₄ ; LLE ₁ : CHCl ₃ ; vizes fázis: NaHCO ₃ ; LLE ₂ : DCM; szerves fázis: koncentrálás levegőárammal	-	GC-MS (FS)	-	-	CTN, CAT	[24]
khat/5 g	0,1 N HCl; szűrés; 1 N NaOH; LLE : CHCl ₃ ; szerves fázis N ₂ ; CHCl ₃	-	GC-MS (FS)	-	-	CTN, CAT, NE	[25]
khat/0,5 g	0,1 M HCl: 1 óra agitáció, melyből 20 perc UH; szűrés	-	GC-MS (FS)	-	-	CTN, CAT, NE	[26]
khat/1 g	1 N oxálsav: 1 éjszaka macerálás; pH 12 (1 M NaOH); LLE : EtAc	(N ₂ ; MeOH) ciklohexanon : 70 °C, 30 perc	GC-MS (FS: kval.) GC-FID (kvant.)	-	-	CTN, CAT, NE	[27]
		N ₂ , TFAA : 60 °C, 15 perc; N ₂ ; PYR; N ₂ ; MeOH					
		N ₂ ; toluol/ MSTFA (4/1): 70 °C, 30 perc					
khat/0,1 g	MeOH: 1 éjszaka macerálás	ciklohexanon : 70 °C, 30 perc	GC-MS (FS: kval.) GC-FID (kvant.)	0,28-2,5	0,4-7,5	CTN, CAT, NE	[28]
		toluol/ MSTFA (3/1): 70 °C, 30 perc					

Jelölések: ld. Rövidítések, 1. táblázat, valamint vastagon szedett vegyületek = kísérletes munkám célvegyületei; kval. = kvalitatív;

kvant. = kvantitatív

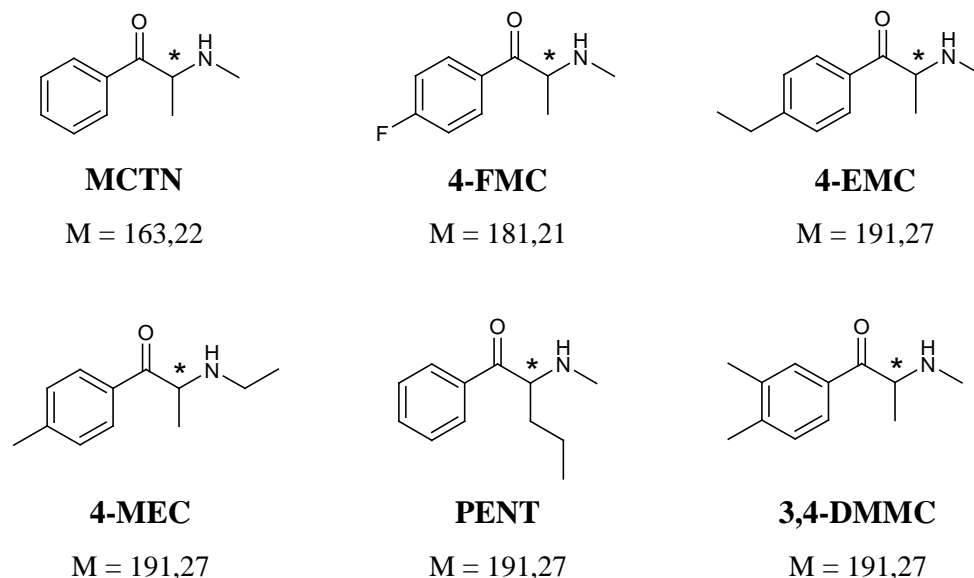
szövet organikus összetevőit (MeOH [24, 28], oxálsav [27], HCl [25, 26]), majd néhány esetben a GC injektálást megelőzően LLE eljárással elválasztották a khataminokat a növény többi alkotójától [24, 25, 27] (2. táblázat). A [24-26] közleményekben származékkészítést nem alkalmaztak, az eredeti vegyületeket tömegspektrumaik legjellemzőbb, m/z 44 ionjai alapján azonosították. A [24] cikkben a khataminok időbeni eltarthatóságát vizsgálták, a [25, 26] publikációkban a vegyületek extrakció alatti, a [26]-ban a leszártás során mutatott stabilitásról olvashatunk. A [27, 28] közleményekben összehasonlították a különböző származékképző szereket (ciklohexanon, TFAA, MSTFA), legalkalmasabbnak az MSTFA-t találták. A vegyületek azonosításához az m/z 73 iont alkalmazták, amely egyértelműen a szililezőszerből, s nem a célvegyületekből származtatható, így azonosításra nem alkalmas.

1.1.4 A CTN-típusú dizájn drogok

A dizájn drogok olyan pszichoaktív szerek, melyek hatása a hatályos tiltólistákon szereplő vegyületekéhez hasonló, ám szerkezetük kissé eltér azoktól, így (ellenőrzés alá vonásukig) törvényesen terjeszthetőek. Az új szerekhez könnyű hozzájutni, általában "emberi fogyasztásra nem alkalmas" felirattal jelzett fürdősóként, növényi tápsóként, illatosítóként, füstölőként vagy vegyszerként kerülnek forgalomba. Kémiai összetételük sokszor mind az árusító, mind a fogyasztó, de akár a készítő számára is ismeretlen, előállításuk szakszerűtlen, hatásuk és adagjuk csak részben ismert [29]. A 2014-ben Magyarországon lefoglalt kábítószerek 60 %-a dizájn drog volt, jellemzően CTN-származékok és szintetikus kannabinoidok [2].

Az első, dizájn drogként népszerűvé vált CTN-származék a 4-MMC volt. A szer 2007-ben Izraelben jelent meg először, majd évekig az egyik legkedveltebb, korlátozás nélkül hozzáférhető anyag volt világszerte. A hazánkban lefoglalt drogok között 2009-ben találták először. A 4-MMC 2011. január 1-jén tiltólistára került, majd a drogpiacon szinte teljesen eltűnt, helyét más CTN-származékok váltották. Magyarországon 2011-ben a 4-MEC, 2012-től a PENT a legjellemzőbb dizájn drog (annak ellenére, hogy 2012. április 3-ától ellenőrzés alatt áll) [2].

A dolgozatomban vizsgált, tiltólistán szereplő CTN-származékok szerkezetét a 2.d ábra mutatja.

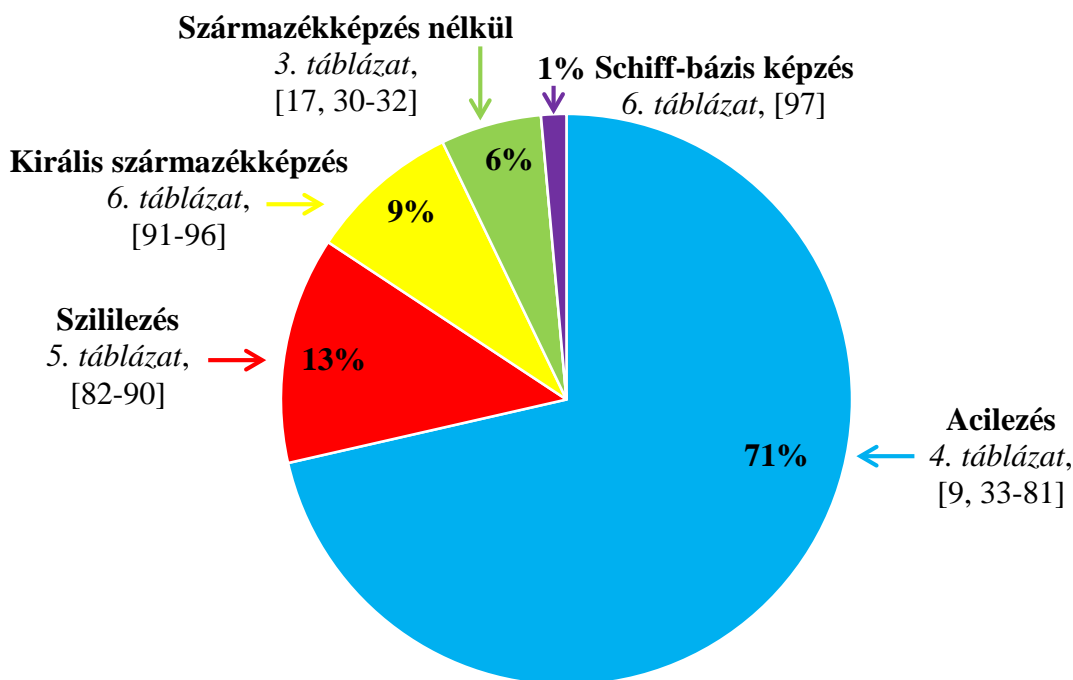


2.d ábra A CTN-típusú dizájnerdrogok szerkezete és molekulatömegeik

1.2 A PFAA-szerkezetű kábítószeres és a CTN-típusú dizájnerdrogok koncentrációjának meghatározása biológiai mintákban, GC-MS alkalmazásával

A disszertációban tárgyalt, PFAA-szerkezetű kábítószeres és CTN-típusú dizájnerdrogok GC-MS meghatározásának irodalmi előzményeit a 2006-tól 2016 februárjáig megjelent publikációk alapján foglalom össze. Az áttekintés azokra a közleményekre korlátozódik, amelyekben a szerzők biológiai mátrixokban, validált eljárással határozták meg a célvegyületek koncentrációját, s a validálás részleteit publikálták.

A PFAA- és CTN-típusú kábítószeres GC-MS mérését (3-6. táblázat, [9, 17, 30-97]) legtöbbször származékképzés előzte meg (94 %, 3. ábra, 4-6. táblázat, [9, 33-97]), melynek célja a vegyületek polaritásának csökkentése, illékonyságának és stabilitásának növelése, az analitikai módszer érzékenységének fokozása, vagy az elválasztás és a szerkezetfelderítés hatékonyságának javítása [98]. A vegyületeket leggyakrabban *N*-acilezett termékeiké alakították (4. táblázat, [9, 33-81]). Külön csoportba soroltam azokat a publikációkat, amelyekben királis reagensekkel acilezték a PFAA- és CTN-típusú kábítószereseket (6. táblázat, [91-96]). Az esetek 13 %-ában (3. ábra) trimetilszililezés (5. táblázat, [82-90]), 1 %-ában Schiff-bázis képzés (6. táblázat, [97]) előzte meg a GC-MS analízist. A 2.2.1-4. fejezetekben a származékképzés módja szerint csoportosított publikációkat részletezem.



3. ábra A PFAA-szerkezetű, valamint a CTN-típusú kábítószer GC-MS meghatározásának irodalmi előzményei, a származékképzés módja szerinti megoszlásban

1.2.1 Meghatározás származékképzés nélkül, a vegyületek eredeti alakjában

A 3. táblázatban összefoglalom a PFAA-szerkezetű kábítószer, valamint a CTN-típusú dizájnertdrogok (fenilalkilaminok) GC-MS meghatározásának származékképzés nélküli lehetőségeit [17, 30-32], s a mérési módszerek körülményeit. A táblázat tartalmazza a közleményekben vizsgált mátrixokat és azok mennyiségét, a minta-előkészítés módját és feltételeit, az alkalmazott adatgyűjtési eljárást, a megadott LOD és LOQ értékeket, a meghatározott fenilalkilaminokat, s a publikációkban mért, más szerkezetű (kábitó)szer számát.

Összefoglalva,

1. az általam vizsgált 12 vegyület közül biológiai minták MSC [17], AM [30-32], MDA [31, 32] és MCTN [32] tartalmát határozták meg származékképzés nélkül;
2. a MSC-t önállóan [17], a többi kábítószer más vegyületekkel egyidejűleg mérték [30-32]; a [32] publikációban két más, a dolgozatomban tárgyalt drogok szerkezetétől alapvetően eltérő vegyületet is bevontak a vizsgálatokba;

3. táblázat A PFAA-szerkezetű kábítószeres, valamint a CTN-típusú dizájnertitkok GC-MS meghatározásának lehetőségei származékképzés nélkül, a vegyületek eredeti formájában

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés: extrakció (v/v)	Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogek)	Hivat- kozás
			ng/mL; ng/mg			
nyál/ 1 mL	1 M NaOH; NaCl; LLE : TBME; szerves fázis N ₂	GC-MS (SIM)	5-10	10-25	AM, E, MA, SEL	[30]
háj/ 20 mg	0,1 M HCl: 40 °C, egy éjszaka; LLE : pH 9,2; DCM/i-PrOH (9/1); szerves fázis N ₂ ; EtAc	PCI-GC- MS/MS	0,05	0,1	MSC	[17]
vér/ 0,5 mL	10% NaOH; LLE : 1-klórbután; szerves fázis inj.	GC-MS (SIM)	5	20	AM, MA, MDA, MDMA	[31]
vizelet/ 0,5 mL						
vizelet/ 1 mL	100 mM NH ₄ OH; HF-LPME : toluol; 30 °C, 10 perc	GC-MS (FS, kval., SIM, kvant.)	0,5-5	3-15	AM, KT, MA, MDA, MDMA, MCTN (+2)	[32]
	100 mM NH ₄ OH; DLLME : toluol; UH 3 perc; NaCl; szerves fázis inj.		0,5-4			
vér/ 1 mL	HF-LPME		1-5			
	DLLME		1-4			

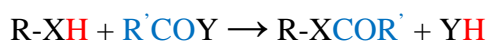
Jelölések: ld. Rövidítések, 1-2. táblázat

3. a közleményekben nyál [30], haj [17], vér [31, 32] és vizelet [31, 32] kábítószer tartalmának meghatározására kidolgozott eljárásokról olvashatunk;
4. a nyálmintában (1 mL) található drogokat 1 M NaOH-val végzett lúgosítást (pH > 7) követően LLE-vel vonták ki, majd a meghatározást SIM adatgyűjtéssel, átlagosan 17,5 ng/mL LOQ érték mellett végezték [30];
5. a hajminta (20 mg) MSC tartalmának meghatározását savas hidrolízist (0,1 N HCl) követő LLE után, PCI-GC-MS/MS technikával kiviteleztek, megbízhatóan 0,1 ng/mg koncentráció felett [17];
6. a [31, 32] publikációkban vér- (0,5-1 mL) és vizeletminták (0,5-1 mL) fenilalkilaminjait a lúgosítást (pH > 7) követő (10 % NaOH [31], 100 mM NH₄OH [32]) LLE [31], HF-LPME [32] és DLLME [32] technikák útján dúsították; a megadott LOQ értékeket összehasonlítva az extrakcióra HF-LPME [32] vagy DLLME [32] eljárás javasolható;
7. az adatgyűjtés FS [32], SIM [30-32] vagy MS/MS [17] módszerrel történt;
8. az LOD értékek átlaga 3,2 ng/mL (vér) és 3,0 ng/mL (vizelet) volt;
9. az LOQ vér- és vizeletminták esetén egyaránt 12,7 ng/mL értéknek adódott, átlagosan.

1.2.2 Meghatározás acilezett származékokként (akirális származékképző reagensekkel)

A 3. ábrán jól látszik, hogy a kutatócsoportok, az esetek döntő többségében (71 %), acilezést választottak a fenilalkilaminok származékká alakítására.

Az acilezés során (4. ábra) acil, jellemzően perfluoroacil védőcsoport kerül – szubsztitúciós reakcióban – hidroxil- és amin-funkciójú vegyületek, valamint amidok és tiolok aktív hidrogénjeinek helyére (karbonsavak, tiokarbonsavak, szulfonsavak nem reagálnak) [99].



4. ábra Az acilezés alapegyenlete (R-XH: célvegyület; R'COY: acilezőszer) [99]

Primer és szekunder aminok esetén az *N*-acilezett termékek stabilabbak (hidrolízisre kevésbé hajlamosak), mint a megfelelő *N*-szililezettek [99]. Ez magyarázza, hogy

a fenilalkilaminok származékká alakítása során az acilezés a kedvezményezett eljárás, a szililezéshez viszonyítva. Az acilezésre leggyakrabban savanhidrideket (AA, TFAA, PFPA, HFBA), acil-halogenideket (PFOCl, HFBCl) vagy acil-amidokat (bisz-trifluoroacetamid, MBTFA) alkalmaznak.

Az MBTFA savanhidridekkel és acil-halogenidekkel szemben tapasztalt előnye, hogy a reakcióban nem keletkeznek nem kívánt, a kromatográfiás rendszert károsító melléktermékek; hátránya, hogy elsősorban aminok acilezésére alkalmas, alkoholok származékká alakítására kevésbé aktív [99]. Ezt támasztja alá A. Miki és munkatársai tanulmánya, akik E és NE MBTFA-val való reakciójában részlegesen acilezett, *N*-TFA termékek keletkezését tapasztalták, míg TFAA-val a vegyületek *N,O*-bisz-TFA származékai képződtek [50].

Az alkil-kloroformátok (metil-kloroformát, PrCF) ritkábban, elsősorban aminok acilezésére használt reagensek. Előnyük, hogy vízre kevésbé érzékenyek, mint más acilezőszerek. Érdekes, hogy ezekkel a reagensekkel terciér aminok is származékká alakíthatók, ilyenkor a legkisebb alkilcsoport helyére szubsztituálódik a védőcsoport [99].

A 4. táblázatban 50 közlemény alapján tekintem át a PFAA- és CTN-típusú kábítószer acilezett származékokkénti GC-MS meghatározásának irodalmi előzményeit [9, 33-81]. Bemutatom a vizsgált mátrixok típusait és azok méréshez szükséges mennyiségeit, a minta-előkészítés részleteit, az alkalmazott adatgyűjtési technika típusát, a mért LOD és LOQ értékeket, valamint az analizált vegyületek körét.

Összefoglalva,

1. a 12 választott vegyület közül biológiai minták AM- [9, 33-35, 37-46, 49-51, 53-61, 63-74, 76, 77, 79-81], MDA- [33-38, 41, 44-47, 52, 54-56, 58-60, 62-68, 70, 72-74, 76-79], NE- [41, 59, 75], MCTN- [46, 48, 59], MSC- [33] és CTN-tartalmát [46] határozták meg az összetevők acilezett származékaiként;
2. a kutatócsoportok egy kivételével ([9]) minden esetben több (legalább kettő) fenilalkilamin egyidejű meghatározását végezték [33-81]; nyolc közleményben más, nem fenilalkilamin szerkezetű vegyületet is bevontak az analízisbe [33, 41, 64, 67, 70, 71, 73, 77];

3. haj- [40, 46, 48, 50, 53-55, 57, 58, 60, 64, 65, 67, 69, 72, 79, 81], vizelet- [33, 35, 36, 38-42, 47, 49, 59, 61, 62, 68, 70, 77], vér- [9, 37, 43, 44, 47, 48, 52, 56, 62, 74, 75, 78, 80], nyál- [34, 51, 63, 71, 73], köröm- [66, 76], agy- [56] és izzadtságminták [45] fenilalkilamin-koncentrációját mérték;
4. a hajszövet (*1-50 mg*) analízise minden esetben a minta mosásával, aprításával kezdődött [40, 46, 48, 50, 53-55, 57, 58, 60, 64, 65, 67, 69, 72, 79, 81], amelyet savas [46, 48, 50, 53-55, 64, 67, 81], lúgos [40, 58, 60, 69, 72, 79], alkoholos [65] vagy vizes (MPE) [57] kivonás követett;
5. a hajban lévő összetevők kioldása után extrakciót (SPE, LLE, HS-SPME, HF-LPME) [40, 48, 50, 54, 55, 57, 58, 60, 64, 67, 72, 79] vagy elpárologtatást (N₂) végeztek [46, 53, 65, 81], majd a vegyületeket acilezett származékaikká alakították; egy közleményben a lúgos extraktumot közvetlenül acilezték [69];
6. a vizelet- (20 µL - 5 mL) és vérminták (100 µL - 2 mL) vizsgálatokor legtöbbször hidrolízis nélkül dolgoztak a kutatók [9, 35, 37, 39, 40, 42-44, 48, 49, 59, 61, 68, 70, 74], néhány esetben a minta-előkészítés során enzimatis [33, 41, 47, 62, 75], savas [36, 52, 56, 78] vagy lúgos bontást [77] végeztek (a biológiai mintában konjugált formában jelenlevő összetevők felszabadítására); egyedi eset, amikor mind a hidrolízist, mind a kivonást mellőzték [38]: 20 µL vizeletet N₂ gázzal leszárították, majd AA-val, ACN oldószer jelenlétében acileztek;
7. a nyálminták (50 µL - 1 mL) előkészítése során hidrolízist nem végeztek [34, 51, 63, 71, 73], az analízis minden esetben extrakciós lépéssel kezdődött;
8. a körmöt (20 mg) lúgos [66] vagy alkoholos [76] kivonás után extrahálták (LLE) [66], vagy leszárították (N₂) [76];
9. agyszövet (7,5 mg) [56] vizsgálatokor az SPE-t savas hidrolízis előzte meg;
10. az izzadtságot tapasztokon gyűjtötték, amelyről az összetevőket savas (pH 5) pufferrel oldották [45];
11. a minták dúsítása leggyakrabban SPE technikával történt [33, 34, 36, 39, 45, 47-52, 54-57, 61, 62, 67, 68, 70, 73, 77, 78]; a pipettahegyes extrakció az SPE eljárás különleges, miniatürizált formája [42, 43], amely kis

- térfogatú minták (0,5 mL vizelet, 0,1 mL vér) analízisét teszi lehetővé; a [74] publikációban rendkívül szelektív MISPE eljárással dolgoztak;
- 12.** a [9, 35, 37, 40, 41, 44, 58-60, 63, 66, 79] közleményekben az összetevők kivonására LLE-t választottak; a [37, 40, 41] cikkekben összetett, többlépcsős LLE eljárással extrahálták a mintában található célvegyületeket;
- 13.** egy közleményben egymást követő SPE és LLE műveleteket alkalmaztak [75];
- 14.** ritkán használtak HS-SPME [64, 69], SPME [71, 80], HF-LPME [72] eljárásokat;
- 15.** a származékképzést legtöbbször az extrakció után végezték [33-37, 40-58, 60-67, 70, 72-79, 81], de néhány esetben a kivonással/elúcióval egyidejűleg [9, 39, 59, 68, 69, 71, 80];
- 16.** az acilezésre HFBA [34, 36, 45, 49, 52, 54-56, 65, 66, 70, 76, 78, 79], TFA [35, 42, 43, 46, 53, 62, 67, 72-75, 81], MBTFA [37, 47, 50, 60, 63, 77], AA [33, 38, 57, 64], PFPA [40, 48, 51, 59], PrCF [68, 71, 80], PFOCI [44, 58], PBTFCI [9], HFBCI [39], PFPA/PFPOH [41], PFBCI [61], HFBA/HFBCI [69] reagenseket alkalmaztak;
- 17.** a származékképző reagens mellé leggyakrabban EtAc [35, 36, 40, 42, 43, 46-49, 51, 53-55, 62, 66, 70, 72-74, 76, 81] oldószert választottak, de előfordult heptán [34, 45, 52, 56, 78], toluol [37, 61], ACN [38, 77], ciklohexán [44, 58], CHCl₃ [60, 63], PYR [33], Na₂CO₃ [57], aceton [65], K₂CO₃ [69], valamint EtAc/ACN (1/1, v/v) elegy [75] használata is; három esetben nem alkalmaztak oldószert [47, 67, 79];
- 18.** hat közleményben bázikus katalizátort (TEA) [34, 45, 52, 56, 61, 78] adtak a reakcióelegyhez;
- 19.** a származékképzés 40 [75], 50 [65], 60 (leggyakrabban) [33-35, 45, 48, 52, 56, 58, 66, 76, 78, 79], 65 [51, 53, 67, 73, 81], 70 [36, 41, 44, 46, 47, 54, 55, 62, 63, 70, 72], 80 [40, 42, 43, 74, 77] vagy 90 °C [40] hőfokon, 10 [36, 42, 43, 74, 77], 15 [51, 53, 73], 20 [34, 40, 45, 48, 52, 56, 78], 30 (leggyakrabban) [33, 35, 44, 46, 54, 55, 62, 63, 65-67, 70, 72, 76, 79, 81], 40 [41, 75], 45 [47] vagy 60 percig tartott [58];

20. három publikációban MH-val támogatták [49, 60, 61], egy közleményben "on-column" végezték a származékképzést [50];
21. az [59] cikkben az első, rövid ideig (2 perc) tartó acilezéskor az aminoszoportok reagálnak, majd 80 °C hőfokon, 10 perc alatt a β -OH-csoportok is;
22. a [77] publikációban *N*-TFA-*O*-TMS termékeket képeztek (MBTFA és BSTFA alkalmazásával);
23. az acilezőszer feleslegétől N₂ gázzal (leggyakrabban) [9, 33, 35, 36, 40-43, 46, 48, 49, 51, 53-55, 58, 59, 61, 62, 65-67, 70, 72-76, 79, 81], levegőárammal [44] vagy extrakciós eljárásokkal (LLE [34, 45, 52, 56, 78], SPME [71, 80], HS-SPME [64, 69], MEPS [57],) szabadultak meg; kilenc publikációban a felesleget nem távolították el [37-39, 47, 50, 60, 63, 68, 77];
24. négy közleményben kémiai ionizációt (NCI [9, 54, 61], PCI [38]), kettőben 2D GC-t használtak [52, 78];
25. az adatgyűjtési technikák közül FS [9, 33, 35, 57, 58, 67, 68, 72] és SIM (leggyakrabban) [34, 36-57, 59-66, 69-71, 73-81] alkalmazására volt példa;
26. az LOD értékek átlaga mátrixok szerint: haj 0,088 ng/mg, vizelet 9,7 ng/mL, vér 4,0 ng/mL, nyál 2,7 ng/mL, köröm 0,029 ng/mg, agy 0,075 ng/mL;
27. az LOQ értékek átlaga mátrixok szerint: haj 0,41 ng/mg, vizelet 24,5 ng/mL, vér 10,8 ng/mL, nyál 8,5 ng/mL, köröm 0,12 ng/mg, agy 0,15 ng/mL.

1.2.3 Meghatározás szililezett származékokként

A. E. Pierce úttörő munkássága [100] óta számos kutatócsoport alkalmaz szililezést a vegyületek – GC-MS meghatározást megelőző – származékká alakítására. Az eljárás legnagyobb előnye széles körű felhasználhatósága: a szililezőszerek a legsokoldalúbban alkalmazható származékképzők, hiszen valamennyi, aktív hidrogént tartalmazó funkciós csoporttal reakcióba lépnek. A szililezés során dialkilszilil, trialkilszilil, alkildimetilszilil, arilszubsztituált szilil vagy alkoxidimetilszilil (jellemzően TMS vagy *terc.*-butildimetilszilil) csoport szubsztituálódik a célvegyületre (5. ábra). Szililezőszerként szilil-kloridokat (TMCS), ecetsav/TFE vagy aminok/amidok szililszármazékait

4. táblázat A PFAA-szerkezetű kábítószeres, valamint a CTN-típusú dizájnerdrogok GC-MS meghatározásának lehetőségei, a vegyületek acilezett származékaiként

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
vizelet/ 1 mL	ureáz: 37 °C, 10 perc; SPE : pH 9; e: ACN/H ₂ O/ TFE (900/100/1); N ₂	AA /PYR (1/1): 60 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (FS)	-	50-100	30 fenilalkilamin- és opioid származék, köz- tük AM , MDA , MSC	[33]
nyál/ 0,4 mL	SPE : pH 6; e: EtAc/MeOH/NH ₄ OH (78/20/2); 120 mM HCl MeOH, N ₂	0,05 M TEA heptán/ HFBA A (10/1): 60 °C, 20 perc; LLE : pH 7,4 puffer, szerves fázis inj.	GC-MS (SIM)	1,0-5,0	5,0-25,0	AM , MA , MDA , MDMA, MDEA, HMA, HMMA	[34]
vizelet/ 2 mL	1 M NaOH; LLE : EtAc; szerves fázishoz 1% HCl MeOH; N ₂	TFAA /EtAc (1/1): 60 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (FS)	1-19	20-30	AM , MA , MDA , MDMA, MDEA, KT, NKT, DHNKT	[35]
vizelet/ 1 mL	cc. HCl: 120 °C, 40 perc; 10 M NaOH és foszfát puffer (pH 6); SPE : pH 5- 6,5; e: CH ₂ Cl ₂ /i-PrOH/ cc. NH ₄ OH (78/20/2); 1% HCl MeOH; N ₂	HFBA A/EtAc (1/1): 70 °C, 10 perc; 1% HCl ACN; N ₂ ; heptán	GC-MS (SIM)	10	25	MDA , MDMA, MDEA, HMA, HMMA	[36]
szérum/ 2 mL	5 M KOH; LLE ₁ : TBME; szerves fázishoz 10% HCl MeOH; vákuum; oldás: 0,5 M KOH; LLE ₂ : toluol	MBTFA /extraktum (1/2); injektor hőfoka: 270 °C ("on-line" származék- képzés)		2,5-6,9	15	AM , MA , MDA , MDMA, MDEA	[37]
vizelet/ 20 µL	N ₂ ; 2% AA ACN: 100 °C, 2 perc ("on line származékképzés")		PCI-GC-MS (SIM)	0,4-1,0	1,0-2,0	AM , MA , MDA , MDMA, MDEA	[38]
vizelet/ 0,2 mL	SPE : pH 12,6; e: 10% PrAc és 1% HFBCI tartalmú n-hexán; töményítés N ₂ ; EtAc		GC-MS (SIM)	-	25	AM , MA , 4-HMA	[39]

Jelölések: ld. Rövidítések, 1-3. táblázat, valamint e = elúció; elv. = elválasztás; d = deszorpció

4. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Számazékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
vizelet/ 1 mL	2 M NaOH; LLE ₁ : EtAc; szerves fázis LLE ₂ : 0,5 M HCl; szerves fázis LLE ₃ : pH 12-13; EtAc; szerves fázis N ₂	EtAc/ PFPA A (1/1): 80 °C, 20 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	40	50	AM , MA	[40]
haj/ 50 mg	2 M NaOH: 90 °C, 20 perc; LLE : EtAc; szerves fázis N ₂	PFPA A/EtAc (1/1): 90 °C, 20 perc; N ₂ ; EtAc		0,8	1,0		
vizelet/ 2 mL	pH 5; β -glükuronidáz; LLE ₁ : pH 9; DEE/CHCl ₃ (4/1); szerves fázis LLE ₂ : ecetsav; szerves fázis N ₂	PFPA A/ PFPO H (10/7): 70 °C, 40 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	5-12,5	12,5-100	AM , MA, MDA , MDMA, MDEA, NE , E, PE, ME (+6)	[41]
vizelet/ 0,5 mL	SPE (pipettahegy): lúgosítás (5 M NaOH); e: MeOH; ecetsav; N ₂	TFAA /EtAc (5/1): 80 °C, 10 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	0,08-0,1	0,5	AM , MA	[42]
vér/ 0,1 mL				1,1-1,5	5		[43]
szérum/ 250 μ L	5% NaOH; LLE : ciklo- hexán; szerves fázis elv.	PFOCI : 70 °C, 30 perc; leszárítás levegőn, EtAc	GC-MS (SIM)	1,4-4,3	11,6-24,1	AM , MA, MDA , MDMA, MDEA	[44]
izzadtság/- (tapasz)	acetát puffer (pH 5): 30 perc; SPE : e: EtAc/MeOH/ NH ₄ OH (78/20/2); 1% HCl MeOH; N ₂	HFBA A/1,15 M TEA heptán (1/10): 60 °C, 20 perc; LLE : foszfát puffer (pH 7,4); szerves fázis inj.	GC-MS (SIM)	2,5-5 ng/tapasz	2,5-5 ng/tapasz	AM , MA, MDA , MDMA, MDEA, HMA, HMMA	[45]
haj/ 20 mg	0,25 M HCl MeOH: 50 °C, 60 perc; N ₂	TFAA /EtAc (1/1): 70 °C, 30 perc; N ₂ , EtAc	GC-MS (SIM)	0,002- 0,024	0,01-0,08	4-Br-(2,5-DiM)PEA, AM , DSEL, FFA, MA, CTN , MDA , MDEA, MDMA, MCTN , NKET	[46]

4. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Számazékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
vizelet/ 1 mL	pH 5; β -glükuronidáz: 56 °C, 120 perc; SPE : pH 6; e: 4% NH ₄ OH EtAc; 1% HCl MeOH, N ₂	20-100 μ L EtAc + 25 μ L MBTFA : 70 °C, 45 perc	GC-MS (SIM)	25	25	MDA , MDMA, HMA, HMMA	[47]
plazma/ 1 mL	pH 5; β -glükuronidáz: 56 °C, 120 perc; SPE : pH 6; e: CH ₂ Cl ₂ /i-PrOH/NH ₄ OH (76/20/4); 1% HCl MeOH, N ₂	MBTFA : 70 °C, 45 perc					
plazma/ 0,1 mL	SPE : pH 6; e: DCM/MeOH/HCl (60/40/1); N ₂	PFPAA /EtAc (1/1): 60 °C, 20 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	-	10-50; 1,0-5,0	Metilon, MCTN , MBDB	[48]
haj/ 15 mg	5M HCl/MeOH (20/1): UH 60 perc; szobahőfok, egy éjszaka; N ₂ ; SPE : pH 6; e: DCM/MeOH/HCl (60/40/1); N ₂						
vizelet/ 5 mL	SPE : pH 6; e: DCM/i-PrOH/HCl (60/40/1); N ₂	HFBA A/EtAc (1/1): MH 250W, 1 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	0,05-0,23	0,17-0,77	AM , MA	[49]
haj/ 10 mg	MeOH/5 M HCl (20/1); SPE : pH 6,8; e: 28% NH ₄ OH/MeOH (1/20); N ₂ ; EtAc; inj.; 3 sec. múlva MBTFA inj. ("on-column" szárazékképzés)		GC-MS (SIM)	0,05-0,1	0,1-0,2	AM , MA	[50]
nyál/ 0,25 mL	SPE : pH 6; e: CH ₂ Cl ₂ /i-PrOH (25/75); 1% HCl MeOH; N ₂	PFPAA /EtAc (1/1): 65 °C, 15 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	0,1-0,7	1-3	AM , MA	[51]

4. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Számazékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
plazma/ 1 mL	0,5 M HCl: 100 °C, 40 perc; 10 M NaOH és foszfát puffer (pH 6); SPE : pH 6; e: EtAc/i-PrOH/ NH ₄ OH (90/6/4); 120 mM HCl MeOH; N ₂	HFBA A/0,05 M TEA heptán (1/10): 60 °C, 20 perc; LLE: puffer (pH 7,4); szerves fázis injektálása	2D GC-MS (SIM)	0,5-2,5	1,0-2,5	MDMA, MDEA, MDA, HMA, HMMA	[52]
haj/ 10 mg	1% HCl MeOH: 38 °C, 20 óra; N ₂	TFAA /EtAc (1/1): 65 °C, 15 perc; N ₂ ; EtOH	GC-MS (SIM)	0,125	0,25	AM, MA	[53]
haj/ 25 mg	MeOH/TFE (85/15): 25 °C, egy éjszaka; N ₂ ; SPE : pH 6; e: DCM/i-PrOH/NH ₄ OH (80/20/2); 1% HCl MeOH; N ₂	HFBA A/EtAc (1/1): 70 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	NCI-GC-MS (SIM)	0,025-2 pg/mg	0,08-5 pg/mg	AM, MA, MDA, MDMA, MDEA, KT, NKT	[54]
			EI-GC-MS (SIM)	0,03-0,05	0,05-0,08		[55]
plazma (egér)/ 0,1 mL	triklórecetsav; cc. HCl: 100 °C, 45 perc; SPE : pH 4,5; e: EtAc/MeOH/NH ₄ OH (77/20/3); N ₂	HFBA A/0,05 M TEA heptán (1/10): 60 °C, 20 perc; LLE : foszfát puffer (pH 7,4); szerves fázis inj.	GC-MS (SIM)	2,5-5,0	10-20	AM, MA, MDMA, MDA, 4-HMA, HMA, HMMA	[56]
agy (egér)/ 7,5 mg				0,05-0,1	0,1-0,2		
haj/ 5 mg (kval.); 1 mg (kvant.)	MPE : H ₂ O; SPE : anionos zavarók adszorpciója; szűrés; AA /20% Na ₂ CO ₃ (10/25): szobahőfok, 20 perc; MEPS : e: MeOH		GC-MS (FS, kval., SIM, kvant.)	-	0,20	AM, MA	[57]
haj/ 10 mg	1,5 M NaOH: 60 °C, 60 perc; LLE : ciklohexán	PFOCl /extraktum (1/100): 60 °C, 60 perc; N ₂ ; ButAc	GC-MS (FS)	0,07-0,14	0,24-0,46	AM, MA, MDA, MDMA	[58]

4. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Számazékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
vizelet/ 0,95 mL	NaHCO ₃ ; LLE : DCM/ PFPAA (30/1), 2 perc; szerves fázis N ₂ , PFPAA : 80 °C, 10 perc (a β-OH csoportok miatt); N ₂ ; DCM		GC-MS (SIM)	1,5-6,25	6,25	AM, MA, NE, E, MCTN, MDA, MDMA, MDEA, MBDB	[59]
haj/ 20 mg	1 M NaOH: 70 °C, 30 min; LLE : CHCl ₃ (KCl)	MBTFA /extraktum (1/2): 300W MH, 3 perc	GC-MS (SIM)	0,020	0,050	AM, MA, MDA, MDMA	[60]
vizelet/ 5 mL	SPE : pH 6; e: DCM/i-PrOH/HCl (60/40/1); N ₂	3 mg mL ⁻¹ PFBCl /toluol/ 1 mg mL ⁻¹ TEA (35/100/10): 225W MH, 2 perc; N ₂ ; EtAc	NCI-GC-MS (SIM)	1,20-13,04 pg/mL	4,00-43,48 pg/mL	AM, MA	[61]
plazma (patkány)/ 0,5 mL	pH 5,2; β-glükuronidáz; SPE : pH 5,2; e: 5% NH ₄ OH MeOH; N ₂	TFAA /EtAc (1/1): 70 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	2	10	MDMA, MDA, HMMA, HMA	[62]
vizelet (patkány)/ 1 mL				3,5	15		
nyál/ 1 mL	LLE : 1 M NaOH; CHCl ₃	MBTFA /extraktum (2/5): 70 °C, 30 perc	GC-MS (SIM)	1-5	10	AM, MA, MDA, MDMA	[63]
haj/ 10 mg	1 M HCl: 60 °C, 60 perc; savas hidrolízis; HS-SPME : 90 °C, 10 perc; AA : 90 °C, 3 perc; d: 250 °C, 3 perc		GC-MS (SIM)	0,06-0,12	0,17-0,37	MDMA, MDEA, MBDB AM, MA, MDA, (+5)	[64]
haj/ 10 mg	MeOH: UH 50 °C, 60 perc; felülúszó szűrése politetrafluoroetilén szűrőn; N ₂	HFBA A/aceton (1/1): 50 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	0,005-0,028	0,05-0,1	AM, MA, MDA, MDMA, NKT	[65]
köröm/ 20 mg	1 M NaOH: 95 °C, 30 perc; LLE : EtAc; szerves fázis N ₂	HFBA A/EtAc (1/1): 60 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	0,015-0,094	0,050-0,314	AM, MA, MDA, MDMA, KT, NKT	[66]

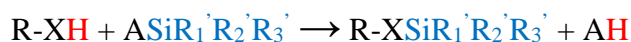
4. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
haj/ 50 mg	0,1 M HCl: 100 °C, 60 perc; SPE : pH 5-6; e: DCM/i-PrOH/25% NH ₄ OH (8/2/1); HCl; N ₂	TFAA : 65 °C, 30 perc; N ₂ ; i-oktán	GC-MS (FS)	-	0,2	AM , MA , MDA , MDMA, MDEA (+8)	[67]
vizelet/ 0,5 mL	SPE : pH 13; e: PrCF /EtAc (1/99): 5 perc		GC-MS (FS)	5-10	10-20	AM , MA , MDA , MDMA	[68]
haj/ 20 mg	NaOH: 70 °C, 30 perc; hűtés 40 °C-ra; HFBA/HFBCl / K ₂ CO ₃ (1/4/165); HS-SPME : 90 °C, 5 perc		GC-MS (SIM)	0,10-0,15	0,15-0,20	AM , MA	[69]
vizelet/ 1 mL	SPE : 0,1 M foszfát puffer; e: DCM/i-PrOH/NH ₄ OH (80/20/2); N ₂	HFBA /EtAc (1/1): 65-70 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	15-65	15-70	AM , MA , MDA , MDMA, MDEA (+2)	[70]
nyál/ 375 µL	pH 10,1; PrCF ; SPME : 20 °C, 20 perc		GC-MS (SIM)	0,5-2	2-4	AM , MA , FEN (+2)	[71]
haj/ 50 mg	1 M NaOH: 70 °C, 15 perc; HF-LPME : 1000 rpm, 45 perc; akceptor fázis N ₂	TFAA /EtAc (1/1): 70 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (FS)	0,01-0,04	0,05	AM , MA , FEN , MDMA , MDA	[72]
nyál/ -	SPE : pH 6; e: CH ₂ Cl ₂ /i-PrOH (25/75); 1% HCl MeOH; N ₂	TFAA /EtAc (1/1): 65 °C, 15 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	2,5	5	AM , MA , MDA , MDMA, PT, FFA, PM (+1)	[73]
vér/ 0,2 mL	MISPE : pH 8,6; e: hangyasav/MeOH (1/100); N ₂	TFAA /EtAc (5/1): 80 °C, 10 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	0,25-3	1,25-5	AM , MA , MDA , MDMA, MDEA, MBDB, BDB	[74]
plazma/ 0,25 mL	LLE : pH 9; PBTFCI (1 mM DCM oldat)/n-hexán (1/10): 20 perc; szerves fázis N ₂ ; EtAc		NCI-GC-MS (FS)	-	0,0490	AM	[9]

4. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Számazékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
plazma/ 0,2 mL	pH 5,5; β -glükuronidáz; arilszulfatáz; SPE : pH 9,0- 9,3; e: DCM/i-PrOH (88/ 12); LLE : 0,01 M HCl; N ₂	TFAA /ACN/EtAc (75/100/100): 40 °C, 40 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	2,5-7,5	5,0-12,5	E, NE, PE, PNE	[75]
köröm/ 20 mg	MeOH: UH 50 °C, 60 perc; N ₂	HFBA /EtAc (1/1): 60 °C, 30 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	0,012- 0,024	0,05- 0,08	AM , MA, MDA , MDEA, NKT	[76]
vizelet/ 0,5 mL	10 M NaOH: 50 °C, 15 perc; HCl; SPE : puffer (pH 13); e: 2% hangyasav MeOH; N ₂	ACN/BSTFA(1% TMCS) (1/1): 80 °C, 30 perc; MBTFA (1): 80 °C, 10 perc (N-TFA O-TMS számazékok)	GC-MS (SIM)	2	10	AM , MA, MDA , MDMA (+4)	[77]
vér/ 1 mL	0,5 M HCl: 100 °C, 40 perc; acetát puffer (pH 4,5); SPE : pH 4,5; e: EtAc/i-PrOH/NH ₄ OH; 120 mM HCl MeOH; N ₂	HFBA A/0,2 M TEA heptán (1/10): 60 °C, 20 perc; LLE: puffer (pH 7,4); szerves fázis inj.	2D GC-MS (SIM)	-	1,0-2,5	MDMA, MDEA, MDA , HMA, HMMA	[78]
haj/ 50 mg	1 M NaOH: 70 °C, 20 perc; LLE : EtAc; 1% HCl MeOH; N ₂	HFBA A: 60 °C, 30 perc; N ₂ , EtAc	GC-MS (SIM)	0,01-0,05	0,2	AM , MA, MDA , MDMA, MDEA	[79]
plazma/ 2 mL	10% TFE (fehérjemetesítés); pH 10,2; PrCF ; SPME : 20 °C, 35 perc		GC-MS (SIM)	1,0-2,0	5,0	AM , DIEP, FEN	[80]
haj/ 3 mg	10% HCl MeOH: szobahőfok, 18 óra; N ₂	TFAA /EtAc (1/1): 65 °C, 30 perc; N ₂ , MeOH	GC-MS (SIM)	0,1-0,125	0,5	AM , MA	[81]

(MSTFA, BSTFA, BSA) használják. Bázikus karakterű oldószerek (tercier aminok, PYR) vagy savak (TFE, oxálsav) katalizálják a reakciót [99].



5. ábra A szililezés alapegyenlete (R-XH: célvegyület; ASiR₁'R₂'R₃': szililezőszer) [99]

A szililezés nehézsége, hogy a mintának tökéletesen száraznak kell lennie (szemben az acilezéssel), máskülönben a reagens a célvegyület helyett vízzel reagálna. A reakciótermékek (különösen az aminok szililezett származékai) rendkívül érzékenyek a hidrolízisre. Ennek elkerülésére a reagenst nagy feleslegben kell alkalmazni, amit a GC injektálást megelőzően sem célszerű eltávolítani [99].

Az áttekintett cikkek 13 %-ában [82-90] alkalmaztak szililezést a PFAA-szerkezetű kábítószeres, valamint a CTN-típusú dizájnerdrogok GC-MS meghatározását megelőzően (3. ábra). Elsősorban olyan tanulmányokban használták ezt az eljárást (89 %, [82, 84-90]), amelyekben a kábítószeraminok mellett más, nem amin típusú drogot (opioidokat, kokaint, kannabinoidokat) és metabolitokat is mértek, hiszen a szililezés egyedülállóan alkalmazható a legkülönbözőbb funkciós csoportú vegyületek egyidejű származékká alakítására. A publikációk részleteit (a vizsgált mátrixok típusa és azok méréshez szükséges mennyisége, a minta-előkészítés módja, az alkalmazott adatgyűjtési technika, a mért LOD és LOQ értékek, az analizált vegyületek köre) az 5. táblázat mutatja.

Összefoglalva,

1. a 12 választott vegyület közül biológiai minták AM- [82-90], MDA- [84-86, 88-90] és MSC-tartalmát [88] határozták meg az összetevők szililezett származékaiként;
2. vizelet- [83, 86, 88], bőr- [82], nyál- [84], köröm- [85], méhlepény- [87], haj- [89] és vérminták [90] fenilalkilamin-koncentrációját mérték;
3. a vizeletben (1-2 mL) található kábítószeres meghatározásakor enzimatisz hidrolízist alkalmaztak [88], vagy előzetes hidrolízis nélkül dúsítottak [83, 86]; az extrakciót SPE [86, 88] vagy LLE [83] eljárással végezték;
4. bőrszövet (50 mg) analízisekor az alkoholos kivonást LLE, majd SPE követte [82];

5. a nyál- [84] és vérmintákat [90] (1 mL vér) SPE-vel dúsították;
6. a körömöt (30 mg) lúgos bontás, majd LLE extrakció után elemezték [85];
7. a méhlepényt (1 g) savval kezelték, s SPE dúsítást végeztek [87];
8. a hajsövet (10 mg) szerves összetevőit alkohollal (MeOH), majd SPE-vel vonták ki; a származékképző szer hozzáadása után HS-SPME eljárást alkalmaztak [89];
9. a szililezésre MSTFA-t (leggyakrabban) [84-87, 90], BSTFA-t (1-5% TMCS katalizátor jelenlétében) [83, 88], MSTFA-t és BSTFA-t együttesen [89], valamint MTBSTFA-t és BSTFA-t egymást követően [82] használtak;
10. a javaslatok többségében oldószermentes közegben szilileztek [83-87, 89, 90], oldószer használatakor ACN [82] vagy EtAc/ACN 1/1 (v/v) [88] volt a választék;
11. a reakciót 60 (leggyakrabban) [83, 87, 88], 70 [85, 86], 80 [82, 90] vagy 100 [84] °C hőfokokon, 15 [82, 85, 86], 30 (leggyakrabban) [83, 84, 87, 88, 90] vagy 45 [82] percig végezték;
12. egy közleményben kémiai ionizációt alkalmaztak (PCI) [82];
13. a felvételeket FS [88-90] és SIM [82-89] üzemmódban készítették;
14. az LOD értékek átlaga mátrixok szerint: vizelet 224 ng/mL, bőr 0,038 ng/mg, nyál 4,9 ng/mL, köröm 0,036 ng/mg, méhlepény 1,5 ng/mg, haj 0,2 ng/mg, vér 5 ng/mL;
15. az LOQ értékek átlaga mátrixok szerint: vizelet 376 ng/mL, bőr 0,075 ng/mg, nyál 14,9 ng/mL, köröm 0,15 ng/mg, méhlepény 4,4 ng/mg, haj 0,4 ng/mg, vér 10 ng/mL.

1.2.4 Meghatározás egyéb származékokként

Hat közleményben királis (acilezett) származékokat [91-96] (származékképző szerek: *R*-MTPCl [92, 94, 96], *S,R*-HFBOPCl [91], *S*-HFBPCl [93], *S*-TFAPCl [95]), egyben pentafluorobenzaldehiddel képzett Schiff-bázisokat [97] mértek. A 6. táblázatban a származékképzés körülményeit és eredményeit részletezem.

Összefoglalva,

1. a 12 választott vegyület közül biológiai minták AM- [91-97] és MDA- [91-93, 95-97] tartalmát határozták meg;

5. táblázat Javaslatok a PFAA-szerkezetű kábítószeres és a CTN-típusú dizájnertdrogok GC-MS elemzésére szililezett származékokként

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
bőr/ 50 mg	MeOH: UH, 15-30 perc; N ₂ ; acetát puffer (pH 4); szűrés; LLE : n-hexán; szerves fázis SPE : CH ₂ Cl ₂ /i-PrOH/29,8% NH ₄ OH (80/20/2); MTBSTFA(1% TBDMCS); N ₂ ; ACN; N ₂ ,	ACN/MTBSTFA(1% TBDMCS) (1/1): 80 °C, 15-20 perc; BSTFA(1% TMCS) : 80 °C, 45 perc	PCI-GC-MS (SIM)	1,25-2,5 ng/50 mg	2,5-5 ng/50 mg	AM, MA (+11)	[82]
vizelet/ 2 mL	1 M NaOH; LLE : DCM; szerves fázis 10% HCl MeOH; N ₂	BSTFA(5% TMCS) : 60 °C, 30 perc	GC-MS (SIM)	10-15	30-50	AM, MA, 4-HA	[83]
nyál/-	foszfát puffer (pH 7,4); 150 mM NaCl; 0,02% tiomerzál; N ₂ ; foszfát puffer (pH 6); SPE : pH 6; e: 2 fr.; 2. fr.: MeOH; DCM/i-PrOH/NH ₄ OH (80/20/2); MSTFA (az amfetamin-vesztés elkerülésére); N ₂	MSTFA : 100 °C, 30 perc	GC-MS (SIM)	2,9-6,9	8,9-20,9	AM, MA, MDMA, MDA, MDEA, PT (+30)	[84]
köröm/ 30 mg	1 M NaOH: 95 °C, 30 perc; LLE : EtAc; szerves fázis N ₂ .	MSTFA : 70 °C, 15 perc	GC-MS (SIM)	0,016-0,056	0,1-0,2	AM, MA, MDA, MDMA (+2)	[85]
vizelet/ 1 mL	SPE : pH 6; e: MeOH/0,1 M HCl (98/2); N ₂	MSTFA : 70 °C, 15 perc	GC-MS (SIM)	2-75	5-98	AM, PT, MA, 4-MA, 4-MMA, MDA, MDMA, MDEA, KT, NKT (+14)	[86]

Jelölések: ld. Rövidítések, 1-4. táblázat, valamint fr. = frakció

5. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
méhle- pény/1 g	0,1% HClO ₄ : UH 45 perc; SPE : pH<7; e: 2 fr.; 2. fr. 5% NH ₄ OH/i-PrOH; N ₂	MSTFA : 60 °C, 30 perc	GC-MS (SIM)	0,7-2,2	2,2-6,5	AM, MA, MDMA (+8)	[87]
vizelet/ 2 mL	pH 5,5; β-glükuronidáz/ arilszulfatáz: 55 °C, 60 min; SPE : e: MeOH, MeOH/i- PrOH (3/1); N ₂	BSTFA(1% TMCS)/EtAc/ ACN (5/2/2) : 60 °C, 30 perc	GC-MS (FS, kval., SIM, kvant.)	0,04-12 µg/mL	0,07-20 µg/mL	MA, AM, NE, MDMA, 4-MA, E, PE, MDEA, MBDB, MDA, MESZ, KT, NKT (+115)	[88]
haj/ 10 mg	MeOH: 56 °C, 18 óra; N ₂ ; puffer (pH 7,4); puffer/20% MOA.HCl (10/1): szobahőfok, 60 perc; puffer; SPE : pH 7,4; e: DCM/i-PrOH (80/2) + 2% NH ₄ OH; N ₂ ; BSTFA/MSTFA (4/1) 1% TMCS ; HS-SPME : 80 °C, 30 perc		GC-MS (FS, SIM szimultán)	0,2	0,4	AM, MA, MDA, MDMA (+13)	[89]
vér/ 1 mL	SPE : 0,1 M foszfát puffer; e: EtAc/NH ₄ OH (98/2); N ₂	MSTFA : 80 °C, 30 perc	GC-MS (FS)	5	10	AM, MA, MDA, MDMA, MDEA, FEN (+7)	[90]

34

6. táblázat A PFAA-szerkezetű kábítószerek, valamint a CTN-típusú dizájnert drogok GC-MS meghatározásának egyéb lehetőségei

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
haj/ 10 mg	1 M NaOH: 100 °C, 30 perc; SPE : pH 6; e: DCM/ i-PrOH/NH ₄ OH (80/20/2); 1% HCl MeOH; N ₂	pH 9,5 karbonát puffer/ S,R-HFBOPCI (10/1) : szobahőfok, 15 perc; LLE: ciklohexán; szerves fázis inj.	NCI-GC-MS (SIM)	0,7-2,7 pg/mg	2,4-8,9 pg/mg	AM*, MA*, MDA*, MDMA*, MDEA*	[91]

Jelölések: ld. Rövidítések, 1-5. táblázat; * = R/S-enantiomerek elválasztása

6. táblázat (folytatás)

Mátrix/ mennyiség	Minta-előkészítés		Adatgyűjtési módszer	LOD	LOQ	Fenilalkilaminok (+ egyéb drogok)	Hivat- kozás
	Extrakció (v/v)	Származékképzés (v/v)		ng/mL; ng/mg			
vér/ 0,5 g	1 M NaOH; LLE : 0,02% TEA 1-klórbután; szerves fázis elv.	R-MTPCI /ACN (1/20): 80 °C, 120 perc; EtOH: 70 °C, 15 perc; N ₂ ; EtAc	GC-MS (SIM)	-	0,004	AM*, MA*, MDA*, MDMA*, MDEA*	[92]
nyál/ 50 µL	-	pH 9 karbonát puffer; 0,1 M S-HFBPCI DCM: szobahőfok, 30 perc; LLE : ciklohexán; szerves fázis inj.	NCI-GC-MS (SIM)	2-10	5-25	AM*, MA*, MDA*, MDMA*	[93]
vizelet/ 2 mL	2 M NaOH; LLE : TEA n-hexán/EtAc (1/1); R-MTPCI : 1 perc; szerves fázis N ₂ (MSTFA: 60 °C, 20 perc; OH csoportokra)		GC-MS (SIM)	1,1-2,3	3,7-7,7	AM*, MA*, MDMA*, HMMA*	[94]
haj/ 50 mg	pH 10 karbonát puffer: UH 40 °C, 30 perc; LLE : hexán/ S-TFAPCI (80/1): 5 perc; szerves fázis leszárítása; EtAc		GC-MS (SIM)	0,1-0,2	0,2-0,5	AM*, MA*, MDA*, MDMA*, MDEA*	[95]
vizelet/ 2 mL	pH 9, TEA, LLE : 3% R-MTPCI n-hexán/EtAc (2/1): 20 perc; szerves fázis N ₂ (MSTFA: 80 °C, 20 perc; OH-csoportokra)		GC-MS (SIM)	-	2-10	AM*, MA*, MDMA*, MDA*, HMMA*, HMA*, HHMA*, HHA*	[96]
vizelet/ 4 mL	HS-HF-LPME : lúgosított (KOH) mintából; pentafluorobenzaldehiddel bevont szál: 30 perc		GC-MS (SIM)	-	0,25-1,00	AM, MDA	[97]

2. a [91-96] közleményekben más fenilalkilaminokat (kábitószereket és metabolitokat) is vizsgáltak;
3. vizelet [94, 96, 97], haj [91, 95], vér [92] és nyál [93] kábítószer tartalmát mérték;
4. a vizelet (2-4 mL) analízisekor a minta dúsítását és az összetevők származékká alakítását egy lépésben végezték [94, 96, 97]; az extrakcióhoz LLE [94, 96] vagy HF-HF-LPME [97] eljárást alkalmaztak;
5. a hajszövet (10-50 mg) kábítószer tartalmának meghatározásakor lúgosan bontották a mintákat [91, 95], majd SPE [91] vagy LLE [95] dúsítást végeztek, utóbbi esetben a származékképzéssel egy lépésben; az SPE-t követő, szobahőfokon 15 percig tartó acilezés után a reagens feleslegét LLE-vel eltávolították [91];
6. a vér (0,5 g) analízisekor LLE után származékképzés (70 °C, 15 perc), majd a reakcióelegy elpárologtatása (N₂) következett [92];
7. a nyálmintát (50 µL) közvetlenül, előzetes extrakció nélkül származékolták (szobahőfok, 30 perc), majd a reagensfelesleg eltávolítására LLE-t alkalmaztak [93];
8. két közleményben kémiai ionizációt használtak (NCI) [91, 93];
9. az MS-t minden esetben SIM üzemmódban működtették [91-97];
10. az LOD értékek átlaga mátrixok szerint: vizelet 1,7 ng/mL, haj 0,076 ng/mg, nyál 6 ng/mL;
11. az LOQ értékek átlaga mátrixok szerint: vizelet 4,1 ng/mL, haj 0,18 ng/mg, vér 0,004 ng/mg, nyál 6 ng/mL.

A biológiai mintákban található PFAA- és CTN-típusú összetevők GC-MS meghatározásának irodalmi előzményeit összefoglalva (2.2. fejezet) kiderült, hogy a vegyületeket leggyakrabban acilezett származékaikként mérték [9, 33-81]. A közlemények 16 %-ában a szerzők a kábítószeraminok mellett más, nem amintípusú drogokat, gyógyszereket és metabolitokat is bevontak a vizsgálatokba [33, 41, 64, 67, 70, 71, 73, 77]: biológiai minták 7-30 összetevőjének együttes meghatározása történt. Szililezést kevesebbszer alkalmaztak a kutatók [82-90], de ezen esetek 89 %-ában egyidejűleg több, különböző szerkezetű vegyületet (6-128) analizáltak [82, 84-90].

Az irodalom áttekintése és a kutatócsoport korábbi tapasztalatai alapján [101-104] nem kétséges, hogy a szililezés egyedülállóan alkalmazható minden olyan esetben, amikor sok, különféle funkciós csoportú vegyület egyidejű meghatározása a cél.

A dolgozatban tárgyalt összetevők egy része (AM, MDA, MSC, CAT, CTN) primer amin, mégsem találtam egyetlen tanulmányt sem, amelyben e vegyületeket 2TMS-származékaikként azonosították/mérték. A növényi és biológiai mátrixok (leggyakrabban vizelet) szerves összetevőinek dúsítása az esetek többségében rendkívül idő- és munkaigényes, a "zöld kémia" feltételeit ([105]) nem közelítő eljárásokkal történik. A dizájn drogok kvantitatív GC-MS meghatározására kevés módszer áll rendelkezésre, az eljárások bővítése szükségszerű. A szililezés karakterisztikus fragmentációs utakat eredményez, ezek feltárása jelentős hozzájárulásnak ígérkezik a CTN-típusú új pszichoaktív szerek szerkezetének kutatása során.

Az előzményekből (2.1.3. fejezet) kitűnt, hogy a *Catha edulis* cserjében található khataminok kvantitatív GC-MS meghatározásának felderítése hiányos, hiszen i) a kromatográfiai rendszerben a vegyületek eredeti formájukban vagy TMS-származékaikként csak részlegesen választhatóak el egymástól; ii) a [27, 28] közleményekben a khataminok azonosítására a tömegspektrumaikban jelen lévő m/z 73 iont alkalmazták, amely egyértelműen a szililezőszerből, s nem a célvegyületekből származtatható.

2. Célkitűzések

A szakirodalmi előzmények részletes ismeretében kitűzött céljaim:

- a. a kutatócsoport által korábban kidolgozott, szerves vegyületek GC-MS analízisére alkalmas, sok összetevőt (> 100) egyidejűleg elemző rendszer [101-104] bővítése a PFAA-szerkezetű aminokkal – kitüntetett figyelemmel a kábítószerekre (AM, MDA, MSC, CTN, CAT) – és a CTN-típusú dizájnertrogokkal (4-FMC, MCTN, PENT, 4-MEC, 3,4-DMMC, 4-EMC); ennek érdekében
- b. részletes származékképzési és fragmentum-analitikai tanulmány készítése: a PFAA- és a CTN-típusú vegyületek TMS-, 2TMS- vagy oxim-TMS-származékká alakítására optimális körülmények feltárása a legalkalmasabb reagens (HMDS/MSTFA/BSTFA), katalizátor (TFE/TMCS/TMIS), oldószer (PYR, EtAc, ACN), reakcióhőfok és -idő meghatározásával;
- c. a khataminok elemzésére javasolt GC-MS eljárások kiegészítéseként a CTN, CAT és NE hatékony kromatográfiás elválasztásának megvalósítása, s a fragmentációs utak részletes ismeretében a vegyületek azonosítására alkalmas fragmentumok bemutatása;
- d. a szakirodalomban javasolt hosszadalmas, legtöbbször rendkívül bonyolult minta-előkészítési eljárások helyett az ún. "zöld kémia" ([105]) feltételeit közelítő módszerek kidolgozása növényi és biológiai mintákban található fenilalkilaminok mérésére;
- e. az új eljárások analitikai teljesítményjellemzőinek meghatározása; összehasonlításuk egymással, valamint a szakirodalomban javasolt módszerekkel;
- f. a munka gyakorlati jelentőségének bizonyítása növényi és biológiai minták (*Lophophora williamsii* kaktusz, *Catha edulis* cserje, vizelet) kábítószer tartalmának meghatározásával.

3. Módszerek

3.1 A kémszerek

A reagensek mindegyike, a standard vegyületek nagy része a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) vállalattól származott. A felhasznált anyagok analitikai tisztaságúak voltak (zárójelben az ellenőrzött tisztasági fok): MeOH ($\geq 99,9$), cc. HCl (37), cc. H₂SO₄ (95,0-98,0), NaOH ($\geq 97,0$), Na₂SO₄ ($\geq 99,0$), NaCl ($\geq 99,0$), DCM ($\geq 99,9$), ACN ($\geq 99,9$), EtAc ($\geq 99,9$), PYR ($\geq 99,9$), TFA (99,5), PFPA (97), HFBA (99,5), TFAA (≥ 99), HFBA (≥ 99), MBTFA (~98), HMDS (99,9), MSTFA ($\geq 97,0$), BSTFA (≥ 99), MSTFA^{TMIS}, TMCS ($\geq 99,0$), HOA-HCl ($\geq 99,0$), BA ($\geq 99,5$), 2-PEA (≥ 99), OMBA (98), 3-PPA (≥ 98), MMBA (98), PMBA (98), 2-MMPEA (97), 4-PBA (98), 2-PMPEA (≥ 98), 2-(3,4-DiM)PEA (≥ 98), MSC (99), heptilamin (99), *D*-amfetamin-szulfát (≥ 99), (\pm)-3,4-metiléndioxiamfetamin-hidroklorid (≥ 99), *D*-metamfetamin-hidroklorid (≥ 99), NE (99).

A CAT, CTN, MCTN, 4-FMC, 4-EMC, 4-MEC, PENT és 3,4-DMMC vegyületek az Igazságügyi Szakértői és Kutató Intézetek - Országos Toxikológiai Intézet, valamint a Bűnügyi Szakértői és Kutatóintézet, Szerves Kémiai Analitikai Szakértői Osztály, Központi Kábítószer Vizsgáló Laboratórium készletéből, hatósági engedéllyel, módszerkidolgozás céljára kapott minták.

3.2 A vizsgált minták

A fehérjementesített, humán vizeletminták a Semmelweis Egyetem Igazságügyi és Biztosítás-orvostani Intézetének Toxikológiai Laboratóriumából érkeztek. A *Lophophora williamsii* kaktusz az Eötvös Loránd Tudományegyetem Növény szervezetani Tanszékéről származott. A *Catha edulis* leveleket a budakalászi Gyógynövénykutató Intézet Kft. bocsájtotta rendelkezésemre.

3.3 Az eszközök

3.3.1 A minta-előkészítés eszközei

A fagyasztva szárításhoz Modulyo liofilizátort (Jencons, Egyesült Királyság); a minták, modelloldatok, oldószer, reagensek és katalizátorok megfelelő térfogatának

méréséhez ± 1 % pontosságú Hamilton mikrofevcskendőket (Bonaduz, Svájc); a tömegméréshez $\pm 0,01$ mg pontosságú analitikai mérleget (Sartorius, Goettingen, Németország); a centrifugálásához Hettich EBA 21 (Tuttlingen, Németország) centrifuga készüléket; az ultrahanggal segített extrakcióhoz Sonorex (RK 52 H) ultrahangos fürdőt (Bandelin electronic, Berlin, Németország); a szűréshez $1,6 \mu\text{m}$ pórusátmérőjű GF/A üvegszűrőpapírt (Whatman, Maidstone, Egyesült Királyság); az oldószer-mentesítéshez Büchi Rotavapor R-200 (Flawil, Svájc) rotációs vákuumleparlót és Büchi V-700 vákuumpumpát; a származékká alakításhoz termosztálható, a reakciócsövekkel azonos méretű fémbetűtű kályhákat (Kutesz, Magyarország) használtam.

3.3.2 Az alkalmazott gázkromatográfias körülmények

A méréseket Varian 450 típusú (Varian, Walnut Creek, USA) gázkromatográfias készüléken végeztem, amely Varian 240 MS/MS ioncsapda rendszerű tömegszelektív detektorral, valamint Varian CP-8400 automata mintaadagolóval és szeptummal ellátott programozható injektorral rendelkezik.

Az elválasztásokat SGE forte capillary (Victoria, Ausztrália) BPX5 jelzésű, 30 m hosszú, $0,25 \text{ mm}$ átmérőjű, $0,25 \mu\text{m}$ filmvastagságú kromatográfias oszlopon végeztem. A vivőgáz nedvességcsapdán átvezetett, 1 mL/perc sebességgel áramoltatott 6.0 tisztaságú ($99,9999\%$) He volt. Az injektor és a kolonnater hőfokprogramjai a 7. táblázatban láthatók.

3.3.3 A tömegspektrométer működésének főbb jellemzői

A Varian 240 MS/MS ioncsapda rendszerű tömegszelektív detektor tömegtartománya $50-1000 \text{ amu}$, pásztázási sebessége $5.000-10.000 \text{ amu/sec.}$, a filament áramerőssége $10-100 \mu\text{A}$ között változtatható, $65.000 \mu\text{s}$ maximális ionizációs időtartam mellett.

A mérések során belső, elektronütköztetési ionizációt használtam. Az átvezető kapilláris (transfer line), az ioncsapda és a manifold hőfoka rendre 300 , 210 és $80 \text{ }^\circ\text{C}$ volt. Az ionizációs feszültséget 70 eV értékre állítottam, a Fil/Mul késleltetés 3 perc volt. A detektort valamennyi mérés során FS üzemmódban alkalmaztam.

A készülék optimális mérési paramétereit Varian MS Workstation 6.9. szoftver segítségével ellenőriztem és vezéltem.

7. táblázat Az injektor és a kolonnatér optimális hőfokprogramjai

1. program	Injektor			Kolonnatér		
	Idő, perc	Hőfok, °C	°C/perc	Idő, perc	Hőfok, °C	°C/perc
				1,00	100	-
	3,00	280	-	0,00	145	10
	1,00	100	100	1,00	195	5
				1,80	280	50
<i>Elemzési idő: 20,00 perc</i>						
2. program	Injektor			Kolonnatér		
	Idő, perc	Hőfok, °C	°C/perc	Idő, perc	Hőfok, °C	°C/perc
				1,00	100	-
	3,00	280	-	0,00	145	10
	1,00	100	100	0,00	230	5
				1,00	280	50
<i>Elemzési idő: 24,5 perc</i>						
3. program	Injektor			Kolonnatér		
	Idő, perc	Hőfok, °C	°C/perc	Idő, perc	Hőfok, °C	°C/perc
				0,00	70	-
	0,10	100	-	0,00	110	40
	3,00	300	200	0,00	230	10
				1,00	300	70
<i>Elemzési idő: 15,00 perc</i>						

3.4 Eljárások

3.4.1 A minta-előkészítés vegyszerei

A minták savanyításához használt 10 % (m/m) HCl tartalmú MeOH oldat készítésekor számított mennyiségű NaCl és cc. H₂SO₄ reakciójában keletkező HCl gázt ismert tömegű MeOH-ba vezettem.

Az oldatok lúgosításához alkalmazott, karbonátmentes 10 % (m/v) NaOH oldatot 50 % (m/v) NaOH friss, a kísérlet napján végzett, ötszörös térfogatra hígításával (desztillált víz) készítettem.

A PYR, EtAc, ACN, DCM, HCl, NaOH, Na₂SO₄, HMDS, BSTFA, MSTFA, TFE, PFPA, HFBA, TFAA, HFBA, MBTFA, TMCS, MSTFA^{TMIS} analitikai tisztaságú kémszereket további tisztítás nélkül használtam.

Az oximmá alakítás reagense a 2,5 % HOA-HCl oldat, amelyet 1,25 g HOA-HCl 50 mL PYR-ben oldásával készítettem.

3.4.2 A modelloldatok

A 10-12 mg/10 mL koncentrációjú modelloldatok készítéséhez az analitikai tisztaságú standard vegyületeket $\pm 0,01$ mg pontossággal mértem, majd desztillált vízben vagy MeOH-ban oldottam. Az oldatokat – a 10,00 mL térfogatokra állítás előtt – $\text{pH} < 7$ értékig savanyítottam: 10 % (m/m) HCl vagy 10 % (m/m) HCl tartalmú MeOH felhasználásával. Az így készült oldatokat desztillált vízzel vagy metanollal 10-1000-szeres térfogatra hígítottam, majd 5-250 μL -eit 2 mL-es, vákuumlejáróló készülékhez csatlakoztatható reakciócsövekbe mértem. Ezután 30-40 °C hőfokú vízfürdőn, rotációs vákuumlejáróló készülékkel tömegállandóságig szárítottam, majd a mintákat származékká alakítottam.

A modelloldatok le nem szárított részleteit a következő kísérletig hűtőszekrényben (2-8 °C) tároltam.

3.4.3 A származékká alakítás

A 4.4.1. pontban ismertetett módon előkészített modelloldatok tömegállandóságig szárított maradékainak feldolgozását a 8. táblázatban részletezett, 1-22. sorszámokkal jelzett eljárásokkal, s a 7. táblázatban jelölt hőfokprogramokkal folytattam.

A származékképzés után az oldatokat szobahőfokra hűtöttem, majd a hígítatlan, vagy a megfelelő származékképző szerrel ötször-tízszer hígított elegyek 1-1 μL térfogatait három párhuzamos mérésben injektáltam a GC-MS rendszerbe.

Minden származékkészítési művelet során három párhuzamos és egy ún. ”műveleti üres” (azonos módon, de modelloldat nélkül összeállított) mintát készítettem.

3.4.4 A vizeletminták előkészítése

3.4.4.1 A vizeletminták kábítószer tartalmának meghatározása LLE dúsítást követően

A centrifugált (1200 rpm, 5 perc) vizeletminták 0,50-1,00 mL térfogatait rázótülsérbe pipettáztam, majd a minták lúgosságát ($\text{pH} > 7$) 20 μL 10 % (m/v) NaOH oldat hozzáadásával biztosítottam. Az LLE dúsítást 4 x 1-1 mL DCM oldószerrel, 1-1 percig végeztem. A fázisok szétválása után az alsó, szerves fázist üvegszűrőpapírra

rétegzett vízmentes Na₂SO₄-on keresztül 5 mL térfogatú reakciósövekbe vezettem. A négy frakciót közös edényben gyűjtöttem. A kivonatot 50 µL 10 % (m/m) HCl tartalmú MeOH felhasználásával savanyítottam (pH < 7), majd az oldószert rotációs vákuumlejáróló készüléken eltávolítottam. A száraz maradékot a 8. táblázatban 2. vagy 17. számmal jelzett eljárással alakítottam származékká.

A visszanyerési, linearitási és LOQ adatok meghatározása során kábítószereket nem tartalmazó vizelet 1,00 mL térfogataihoz a PFAA-szerkezetű vegyületek ismert mennyiségeit adalékoltam (kivétel: "műveleti üres"). A minta-előkészítés további lépései egyeznek az előző bekezdésben leírt eljárással.

3.4.4.2 A vizeletminták kábítószertartalmának meghatározása előzetes extrakció nélkül

A centrifugált (1200 rpm, 5 perc) vizeletminták 20-40 µL részleteit 10 µL 10 % (m/m) HCl oldattal savanyítottam, majd rotációs vákuumlejáróló készüléken tömegállandóságig szárítottam. Ezután a mintákat a 8. táblázatban 2. vagy rendre 22. és 15. számmal jelzett eljárásokkal közvetlenül, előzetes extrakció nélkül alakítottam származékká.

A visszanyerési, linearitási és LOQ adatok meghatározása során kábítószereket nem tartalmazó vizelet 20 µL térfogataihoz a CTN-típusú dizájnerdrogok ismert mennyiségeit adalékoltam (kivétel: "műveleti üres"). A minta-előkészítés további lépései egyeznek az előző bekezdésben leírt eljárással.

3.4.5 A növényminták előkészítése

A *Catha edulis* (25,09 g) és *Lophophora williamsii* (2,95 g) mintákat fagyasztva szárítottuk. A *Catha edulis* levelek liofilizálás utáni tömege 8,37 g, a *Lophophora williamsii* szöveté 0,260 g.

3.4.5.1 A *Lophophora williamsii* minta extrakciója

2,00 mg liofilizált kaktuszhoz 2,0 mL 10 % (m/m) HCl tartalmú MeOH oldatot adtam, s a mintát 60 °C hőfokú UH fürdőben, 30 percig extraháltam. Az oldószert párolgásának visszaszorítására visszafolyó hűtőt alkalmaztam. A minta folyadék fázisát

szobahőfokra hűtés és centrifugálás után analitikai pontossággal 5,0 mL térfogatú mérőlombikba öntöttem. Az UH támogatott kivonást 3 alkalommal ismételtam, a frakciókat közös edényben gyűjtöttem. A kivonat 5-50 µL részleteit 2 mL térfogatú reakciócsövekbe mértem, 30 - 40 °C hőfokon tömegállandóságig szárítottam, majd a 8. táblázatban 2. vagy 16. számmal jelzett eljárásokkal származékká alakítottam.

3.4.5.2 A *Lophophora williamsii* és a *Catha edulis* minták kábítószer tartalmának meghatározása, a vegyületek előzetese kivonása nélkül

A peyote kaktusz és a khat cserje liofilizátumainak 0,1-5 mg részleteit 2 mL-es, vákuumlejáróló készülékhez csatlakoztatható, csavarmenettel ellátott reakciócsövekbe mértem, majd a 8. táblázatban 2. vagy rendre a 22. és 15. számmal jelzett eljárásokkal közvetlenül, előzetes extrakció nélkül származékká alakítottam. Centrifugálás (1200 rpm, 5 perc) után hígítás nélkül, vagy ötszörös/tízszerez hígításban injektáltam az oldatokat.

A *Catha edulis* minta elemzését standard addíciós módszerrel egészítettem ki: az ismert koncentrációjú khatamin oldatok megfelelő térfogatait rotációs vákuumlejáróló készüléken leszárítottam, s a száraz maradékokat a liofilizátum jelenlétében alakítottam származékká.

3.4.6 A lineáris tartományok és az LOQ értékek meghatározása

A lineáris tartományok meghatározása legkevesebb öt koncentrációsinten történt. LOQ értéknek azt a koncentrációt választottam, amelyre először teljesült a jel/zaj ≥ 10 feltétel. A khataminok megfelelő adatainak meghatározása modelloldatokból, a PFAA-szerkezetű vegyületeké és a CTN-típusú dizájnerdrogoké adalékolt vizeletmintákból történt.

8. táblázat A fenilalkilaminok származékkészítésének kísérleti feltételei, s az optimális változatok

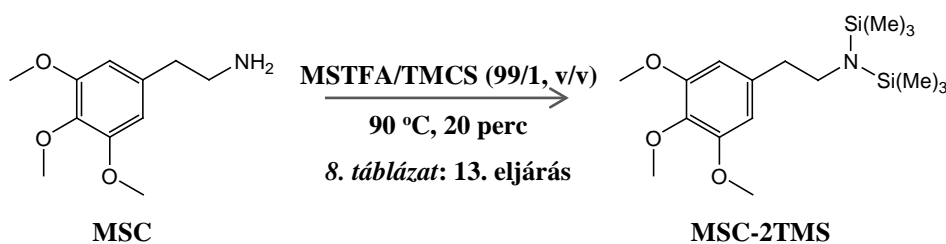
#	Oldószer, μL	Reagens, μL	Hőfok, $^{\circ}\text{C}$	Idő, perc	Hőfok-program*		
1.	PYR/HMDS/TFE: 50/90/10, 100/70/30, 125/225/25		80, 90	20	1., 3.		
2.	EtAc: 100	HMDS/TFE: 55/45, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 95/5	70, 80 , 90	10, 20 , 30	1.		
3.		HMDS/PFPA: 70/30	80	20			
4.		HMDS/HFBA: 70/30					
5.		MSTFA/TFE: 70/30					
6.		BSTFA/TFE: 70/30					
7.		TFE: 30					
8.		TFAA ^{**} : 100					
9.		HFBA ^{**} : 100					
10.		MBTFA: 100					
11.		ACN: 100				HMDS/TFE: 70/30	
12.	-	MSTFA: 150			90	60	2.
13.	-	MSTFA/TMCS: 99/1	90	20	1., 2.		
14.	-	MSTFA ^{TMIS} : 150	90	60	2.		
15.	PYR/MSTFA: 15/135, 25/125, 40/110, 50/100		70^{#&} , 80, 90	20, 30^{#&} , 60, 90	1-3.		
16.	PYR/MSTFA/TMCS: 40/100/10 , 43/100/7, 45/100/5, 48/100/2		90	60			
17.	PYR: 50	MSTFA^{TMIS}: 100	70, 80, 90 , 100	10, 20, 30, 60 , 90			
18.	EtAc: 50	MSTFA: 100	90	60	2.		
19.		MSTFA ^{TMIS} : 100					
20.	ACN: 50						
21.	PYR: 50	BSTFA: 100	70	30	1., 3.		
22.	2,5 % HOA-HCl [§] : 50		70[#] , 85, 100^{&}	30[#] , 60^{&} , 90	-		

Jelölések: ld. Rövidítések, valamint vastagon szedve az optimálisnak talált reakciókörülmények; * = a hőfokprogram részletei a 7. táblázatban; ** = a származékképzés után az oldatokat szobahőfokra hűtöttem, majd N₂ gázzal szárazra pároltam, s a maradékokat 200 μL EtAc oldószerben oldottam; § = az oximmá alakítás után az oldatokat szobahőfokra hűtöttem, majd a származékképzést az 1., 15-17. vagy 21. sorszámú eljárásokkal folytattam, azzal a különbséggel, hogy további oldószert nem adtam a mintákhoz; #, & = összetartozó, optimális feltételek: 22. eljárás 70 $^{\circ}\text{C}$, 30 perc után 15. eljárás 70 $^{\circ}\text{C}$, 30 perc, 22. eljárás 100 $^{\circ}\text{C}$, 60 perc után 15. eljárás 70 $^{\circ}\text{C}$, 30 perc

4. Eredmények

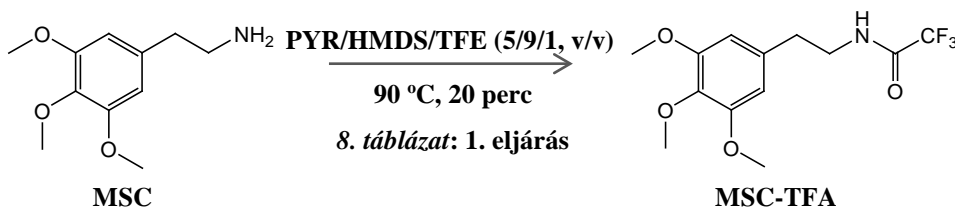
4.1 Bevezető vizsgálatok: az MSC származékképzési tanulmánya

Az MSC kvantitatív GC-MS meghatározásának irodalmi előzményeit áttekintve kitűnt, hogy 2006-2015 között csupán egyetlen cikkben elemezték TMS-származékát [88]: a terméket 1 % TMCS katalizátor jelenlétében, BSTFA-val készítették, 127 további droggal egyidejűleg (a reakció részletei az 5. táblázatban). A közlemény nem terjed ki sem a tömegspektrumok ismertetésére, sem a fragmentációs utak bemutatására. Tovább kutatva az irodalomban – nem ragaszkodva a biológiai/növényi mátrixhoz, vagy a mérések kvantitatívitasának számszerű jellemzéséhez –, egy 2009-ben publikált könyvben ráakadtam az MSC-2TMS spektrumára [106]. A szerzők MSC és MSTFA (1 % TMCS) reakciójában jutottak a termékhez (6. ábra).

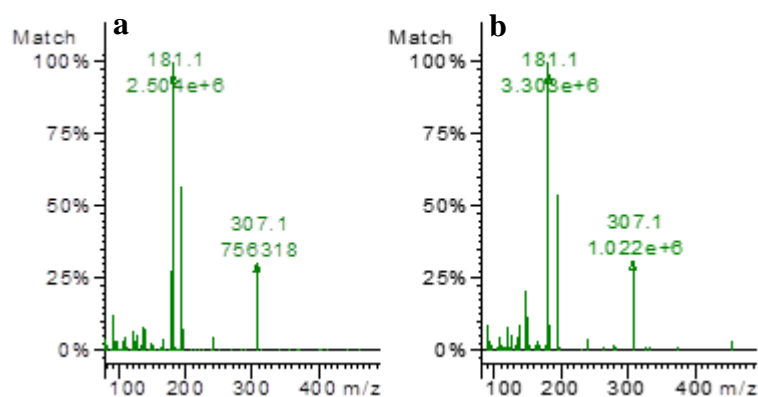


6. ábra Az MSC reakciója MSTFA+TMCS reagenssel, oldószermentes közegben [106]

A reakciót sikerrel reprodukáltam. Arra számítottam, hogy amennyiben az MSTFA+TMCS reagenst a kutatócsoportunk által ez idáig több mint 100 vegyület TMS-származékká alakítására optimálisan alkalmazott HMDS+TFE [101-104] párosra cserélem, ugyanez a termék (MSC-2TMS) keletkezik. Legnagyobb meglepetésemre nem így történt. A folyamat MSC-TFA származékot eredményezett (7. ábra), amit az irodalmival [106] összevetett tömegspektrum és retenciós idő alapján azonosítottam (8. ábra).



7. ábra Az MSC reakciója HMDS+TFE reagenssel, PYR oldószer jelenlétében



8. ábra Az irodalmi, tradicionális (TFAA) eljárással (a) és a HMDS+TFE reagenspárossal (b) képzett MSC-TFA tömegspektruma

Ez a reakció újdonság az (analitikai) kémiában. Az aminok acilezésére ismert, tradicionális eljárásokban savanhidrideket (AA [33, 38, 57, 64], TFAA [35, 42, 43, 46, 53, 62, 67, 72-75, 81], PFPAA [40, 41, 48, 51, 59], HFBA [34, 36, 45, 49, 52, 54-56, 65, 66, 69, 70, 76, 78, 79]), acil-halogenideket (PFBCl [61], PFOCl [44, 58], HFBCl [39, 69], PBTFCl [9]), acil-amidot (MBTFA [37, 47, 50, 60, 63, 77]) vagy alkil-kloroformátot (PrCF [68, 71, 80]) alkalmaznak. A reagensek hátránya, hogy a reakcióban – az MBTFA kivételével – savas melléktermékek keletkeznek, melyeket a GC-MS injektálást megelőzően célszerű eltávolítani: szárítással N_2 -/levegőáramban [33, 35, 36, 40-44, 46, 48, 49, 51, 53-55, 58, 59, 61, 62, 65-67, 70, 72-76, 79, 81] vagy extrakcióval (LLE [34, 45, 52, 56, 78], SPME [71, 80], HS-SPME [64, 69], MEPS [57]). Ezek az eltávolítási folyamatok amellyel, hogy növelik a minta-előkészítés idejét, jelentős anyagvesztést okozhatnak.

4.2 Az új acilezési eljárás részleteinek feltárása

Meghatároztam az új reakcióval acilezhető vegyületek körét, a legmegfelelőbb reagensarányt, oldószert valamint a reakció optimális hőfokát és idejét. Vizsgáltam, hogy mi az eredménye annak, ha a HMDS-t más szililezőszerre, vagy a TFE-t más perfluorokarbonsavra cserélem. A kutatás kiterjedt a tömegspektrumok részletes elemzésére, s az új acilezési eljárás feltételezett reakciómechanizmusának megállapítására. A módszer eredményességét összehasonlítottam a klasszikus acilezési előíratokkal.

4.2.1 Az új reakció szerkezeti feltételei

Megválaszolando kérdésként merül fel, hogy

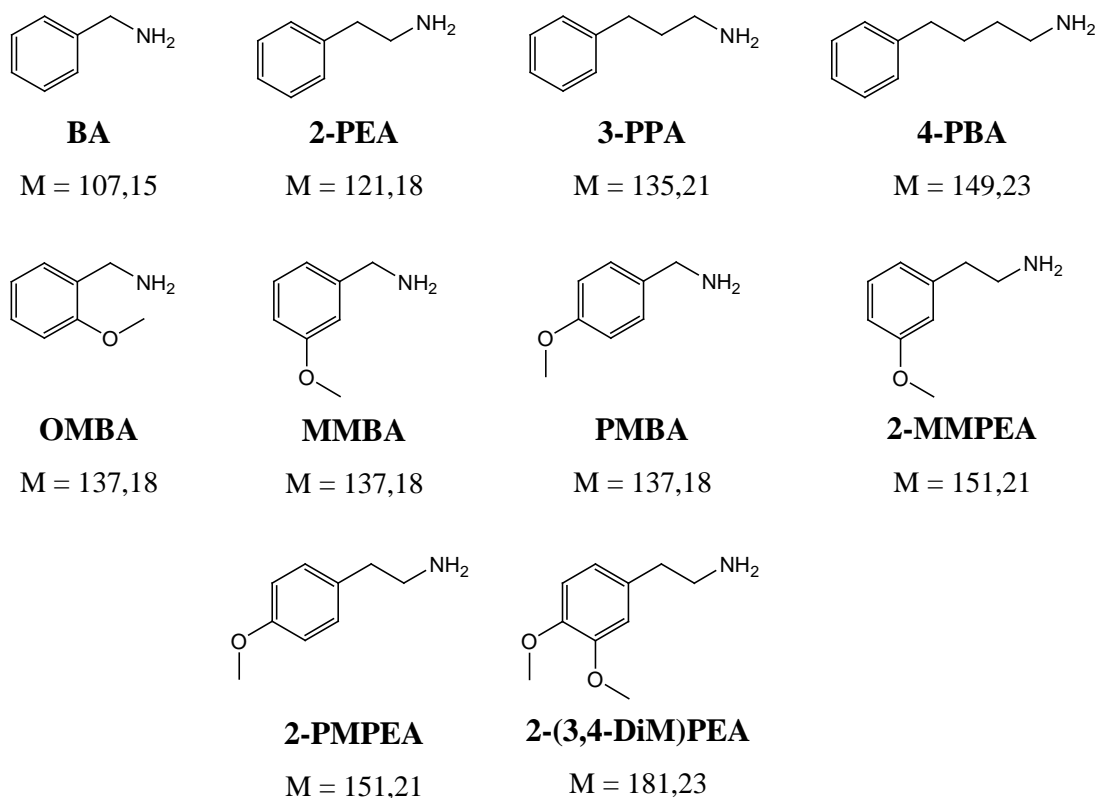
1. az aminocsoport és az aromás gyűrű távolságának (az alifás szénlánc hosszának) van-e jelentősége az új acilezési reakció szempontjából, ezért BA, 2-PEA, 3-PPA, 4-PBA vegyületeket vizsgáltam;
2. a metoxi-csoportok száma és helyzete befolyásolja-e a folyamat hatékonyságát, így bevontam kísérleteimbe az OMBA, MMBA, PMBA, 2-MMPEA, 2-PMPEA és 2-(3,4-DiM)PEA vegyületeket;
3. feltétele-e a reakciónak a primer aminocsoport láncvégi elhelyezkedése, ezért AM-et és MDA-t reagáltattunk a HMDS+TFE reagenspárossal;
4. alifás aminok vagy szekunder fenilalkilaminok acilezhetőek-e az új eljárással, ezért a heptilamin és az MA vegyületeket is vizsgáltam.

A származékká alakítást a bevezető vizsgálatoknak megfelelően, a 8. táblázatban 1. számmal jelzett eljárással végeztem. Megállapítottam, hogy az acilezési reakció lejátszódása független az aminocsoport és az aromás gyűrű közötti szénlánc hosszától (1-4 szénatomszám között), a metoxi-szubsztituens meglététől/számától (0-3) és helyzetétől (*o*-, *m*-, *p*-), valamint a primer aminocsoport láncvégi/láncközi szénatomon való elhelyezkedésétől. Alifás aminok és szekunder fenilalkilaminok nem acilezhetőek az új eljárással.

Összegezve tapasztalataimat: a HMDS+TFE reagenspáros a PFAA-szerkezetű vegyületek szelektív acilezőszere. A vizsgálatainkban szereplő, s az eddigiekben nem ismertett vegyületek szerkezetét a 9. ábrán mutatom be.

4.2.2 A megfelelő reagensarány és oldószer, valamint a reakció optimális hőfokának és idejének meghatározása

A legalkalmasabb reagensarány felderítésekor a [HMDS]/[TFE] molarányt (n/n) 0,44/1 - 7,1/1 tartományban változtattam (8. táblázat: 2. eljárás): az egyes vegyületek válaszeleit hat szinten hasonlítottam össze. Minthogy az irodalomban jellemzően EtAc közegben acileznek [35, 36, 40, 42, 43, 46-49, 51, 53-55, 62, 66, 70, 72-74, 76, 81], első megközelítésben ezt az oldószert alkalmaztam vizsgálataimhoz (az előzmények [33, 35, 36, 40, 46, 48, 49, 51, 53-55, 62, 65, 66, 70, 72, 73, 76, 81] alapján a választott



9. ábra A BA 2-PEA, 3-PPA, 4-PBA, OMBA, MMBA, PMBA, 2-MMPEA, 2-PMPEA és 2-(3,4-DiM)PEA szerkezete és molekulatömegeik

9. táblázat A HMDS+TFE reagenspárossal végzett acilezés hatékonysága a [HMDS]/[TFE] (n/n) molarány és az alkalmazott oldószer (EtAc, ACN, PYR) függvényében (oldószer/reagenspáros = 1/1, v/v)

PFAA	válaszjel, IE/pg x 10 ⁴ (RSD%)*; [HMDS]/[TFE]					
	0,44/1	0,56/1 - 2,07/1	3,3/1	7,1/1	0,85/1	
	EtAc				ACN	PYR
BA	3,19 (1,53)	3,96 (4,76)	3,18 (2,60)	2,86 (0,77)	3,92 (2,90)	<LOD
2-PEA	3,59 (1,14)	4,81 (4,28)	3,41 (2,20)	3,06 (0,79)	4,68 (3,30)	<LOD
OMBA	3,48 (3,81)	4,99 (4,36)	4,07 (3,93)	3,82 (4,06)	5,00 (3,28)	0,77 (2,46)
MMBA	3,28 (0,22)	3,88 (3,64)	3,01 (3,31)	3,01 (1,22)	4,09 (3,56)	3,33 (3,74)
PMBA	3,75 (2,47)	4,93 (4,81)	4,21 (1,91)	4,01 (0,94)	4,69 (3,12)	4,34 (0,73)
2-MMPEA	2,78 (1,83)	3,70 (2,66)	3,25 (2,76)	2,82 (3,61)	3,70 (4,12)	3,73 (2,55)
2-PMPEA	3,15 (3,78)	4,72 (3,70)	3,89 (1,35)	3,59 (1,86)	4,60 (2,73)	4,73 (2,49)
2-(3,4-DiM)PEA	1,76 (1,33)	2,55 (4,81)	2,33 (1,90)	2,29 (4,58)	2,55 (1,77)	2,53 (3,21)
MSC	1,61 (3,19)	2,26 (2,25)	2,09 (0,84)	2,14 (2,38)	2,13 (1,15)	2,19 (2,85)

Jelölések: Id. Rövidítések, valamint * = a származékképzési és az injektálási párhuzamosok (három-három) válaszjeleinek átlaga és relatív szórása

oldószer/reagenspáros térfogatarány 1/1, v/v). A mérések eredményét az 9. táblázat tartalmazza: legmegfelelőbbnek a $[HMDS]/[TFE] = 0,56/1-2,07/1$ (n/n) mólaránytartomány tekinthető (kékkel nyomtatott adatok). Minden további acilezést a $[HMDS]/[TFE] = 0,85/1$ (n/n), oldószer/HMDS/TFE = 10/7/3 (v/v) összetétellel végeztem. A reakciót 70, 80 és 90 °C hőfokon, 10, 20 és 30 percig kiviteleztem. Legalkalmasabbnak a 80 °C-on, 20 percig tartó acilezést találtam (8. táblázat: 2. eljárás).

Az oldószerválasztás során összehasonlítottam a PYR, EtAc és ACN oldószereket (a származékképzés körülményeit ld. a 8. táblázatban: 1-2., 11. eljárások). A 9. táblázatból kitűnik, hogy a BA és a 2-PEA egyáltalán nem reagálnak (származékaik nem detektálhatóak), az OMBA és MMBA vegyületek pedig jelentősen kisebb válaszjelet eredményeznek PYR közegben, mint EtAc-ban vagy ACN-ben. Ezért a PYR használatát elvettem. Az ACN és EtAc oldószereket egyaránt jónak találtam. A további vizsgálatok során a modelloldatok leszárított maradékait EtAc-ban oldottam.

4.2.3 A HMDS+TFE reagenspáros egyik vagy másik tagjának cseréje, elhagyása

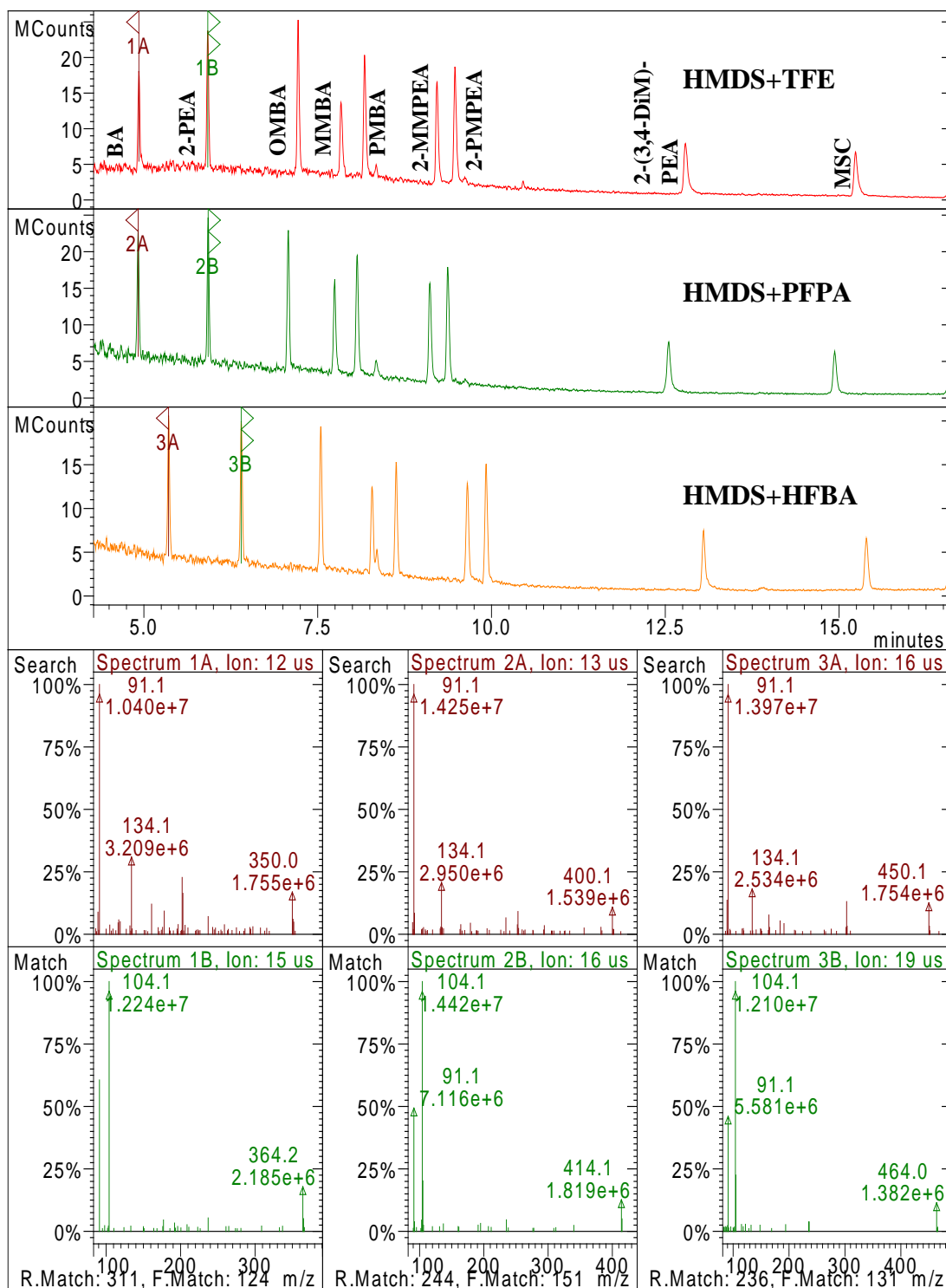
A HMDS-t más szililezőszerre – MSTFA-ra vagy BSTFA-ra – cseréltem: EtAc/MSTFA/TFE vagy EtAc/BSTFA/TFE = 10/7/3 (v/v) összetételeket alkalmaztam (8. táblázat: 5-6. eljárások). Az acilező reakció nem játszódott le.

A HMDS-t elhagyva, EtAc/TFE = 10/3 (v/v) arányú elegyét alkalmazva (8. táblázat: 7. eljárás), nem acileződtek a vegyületek.

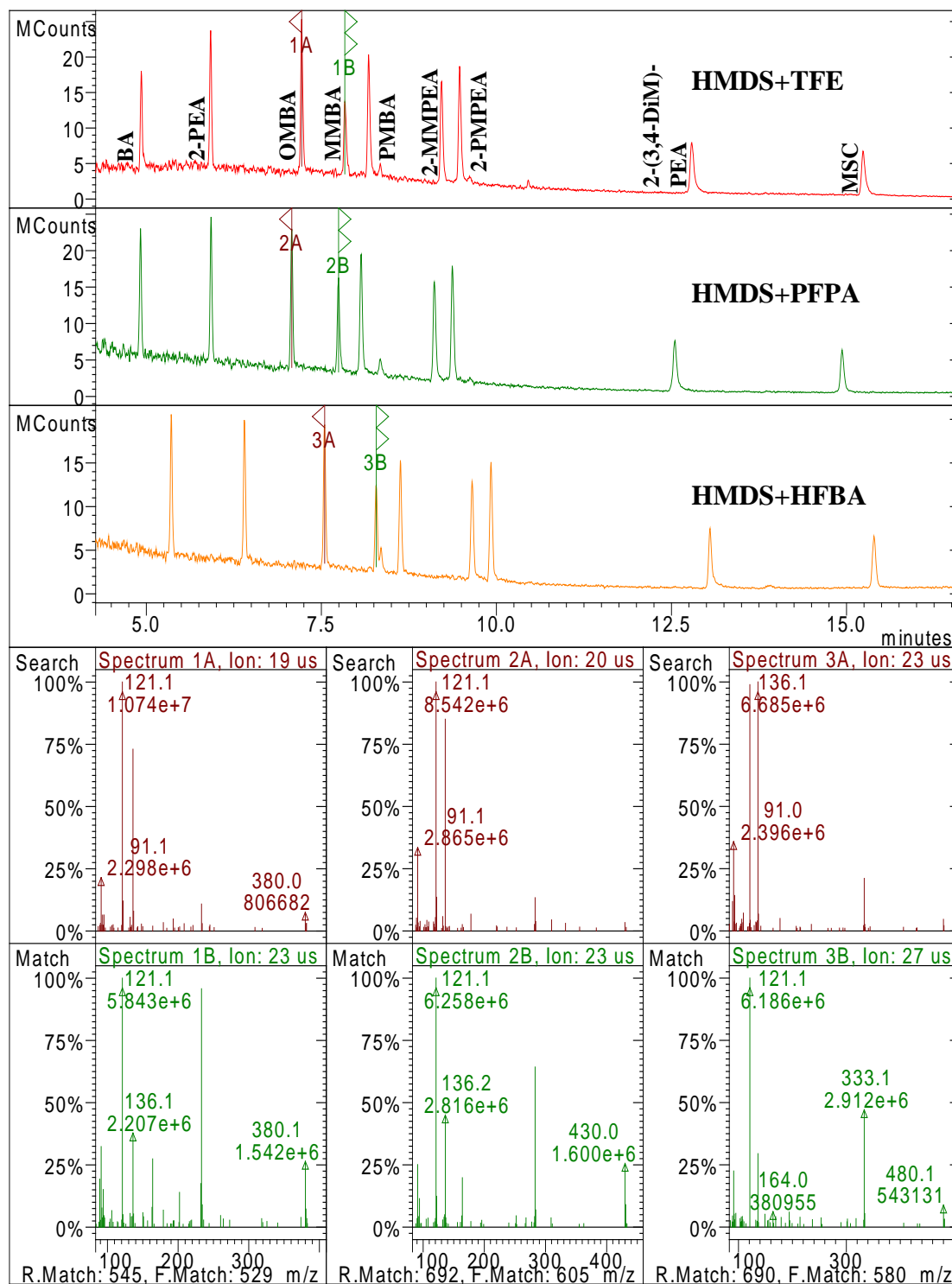
A TFE-t más perfluorokarbonsavra – PFPA-ra vagy HFBA-ra – cseréltem: EtAc/HMDS/PFPA vagy EtAc/HMDS/HFBA = 10/7/3 (v/v) összetételeket alkalmaztam (8. táblázat: 3-4. eljárások). Mindkét esetben a megfelelő perfluoroacilezett származékok keletkeztek (10.a-e ábra). A termékek válaszjeleinek nagysága független az alkalmazott perfluorokarbonsavtól (10. táblázat: 8. oszlop).

4.2.4 Az új eljárással képzett acilezett termékek tömegspektrumainak elemzése

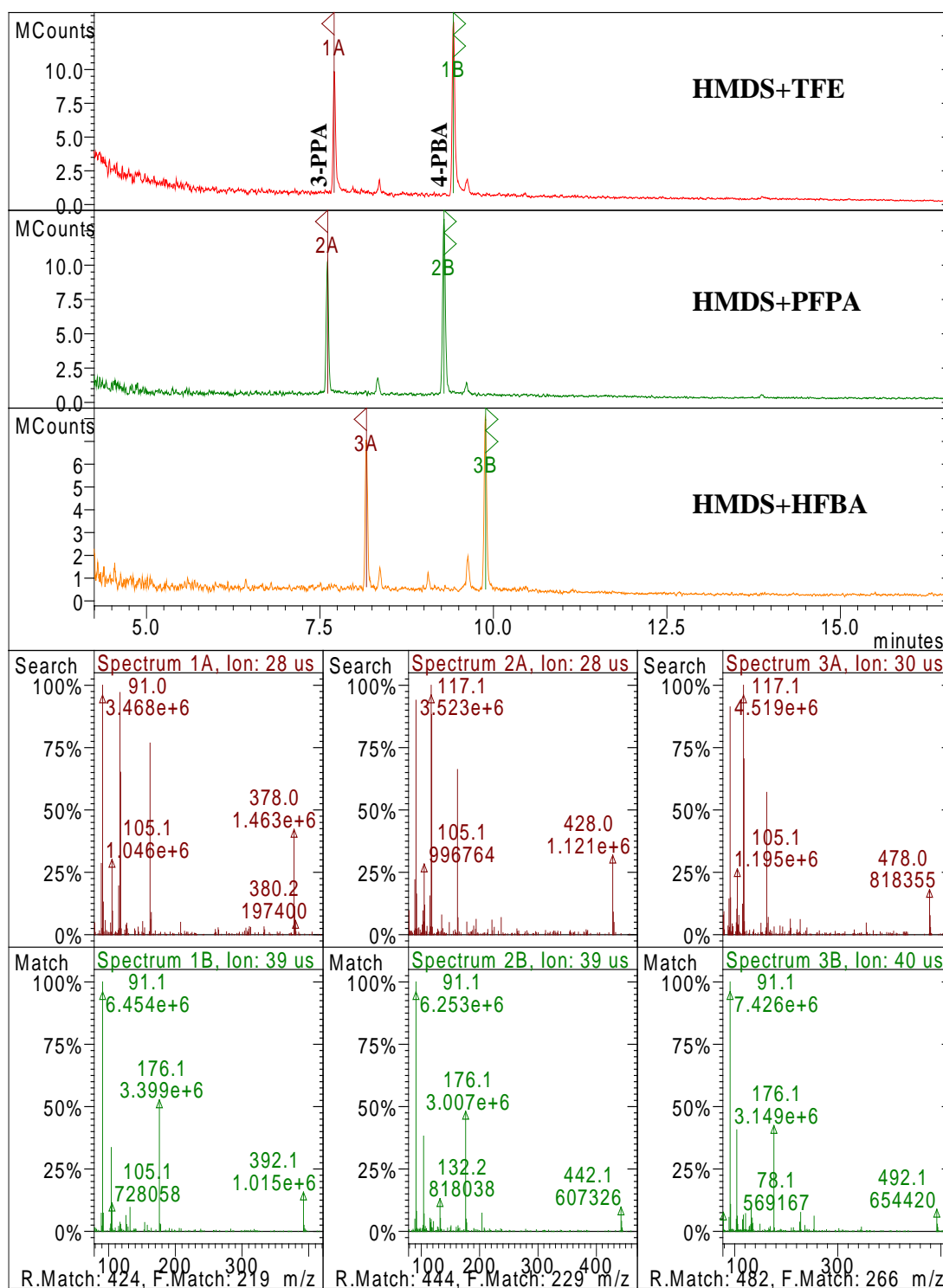
A vegyületek HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárosokkal keletkezett TFA-, PFP- és HFB-származékainak jellemző fragmentumait a 10. táblázat 6. oszlopában, a molekulatöredékek szerkezetét a 11. ábrán mutatom be.



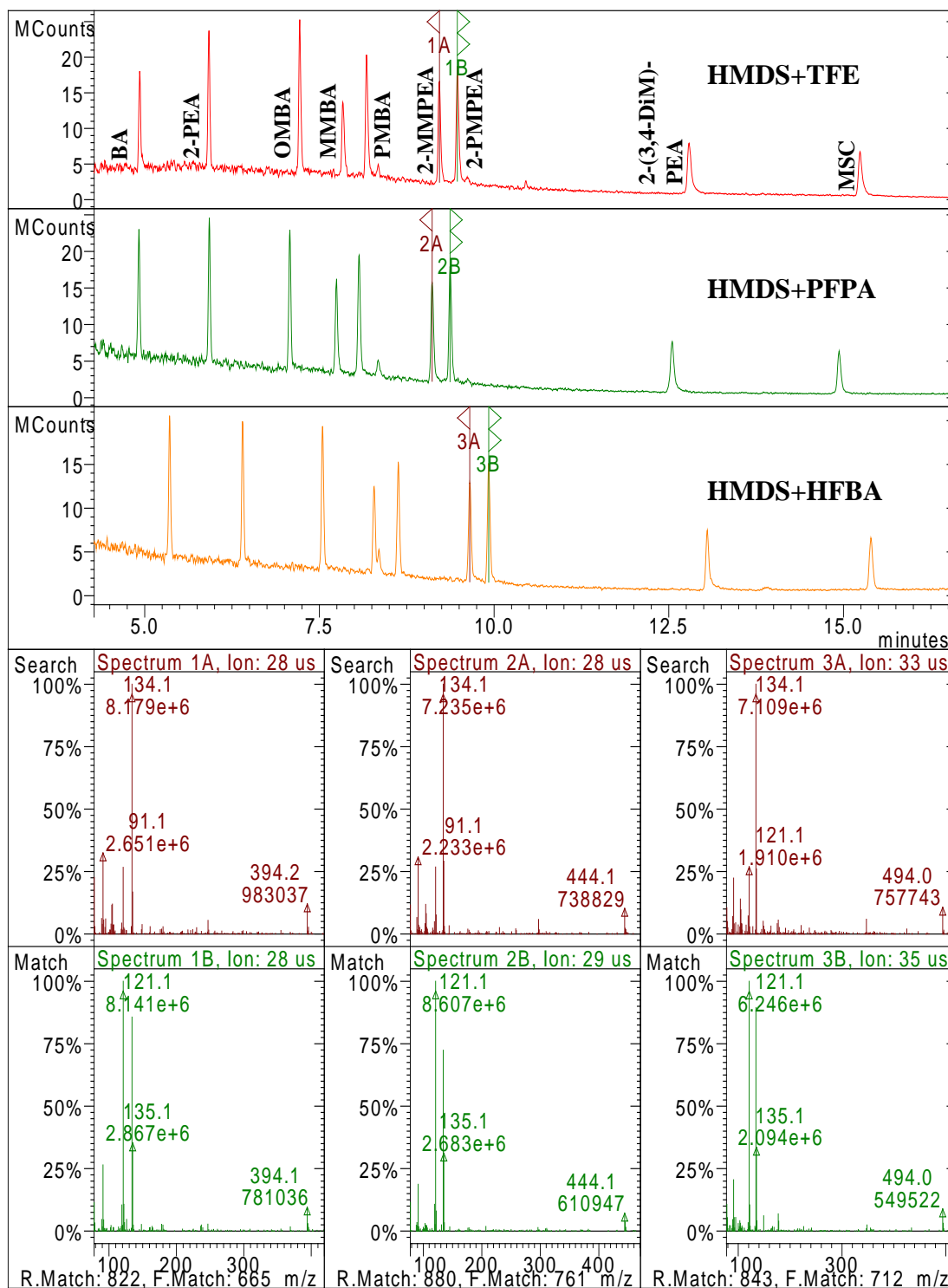
10.a ábra A BA (Spektrum 1A, 2A, 3A) és a 2-PEA (1B, 2B, 3B) HMDS+perfluorokarbonsav (TFE: 1A, 1B; PFPA: 2A, 2B; HFBA: 3A, 3B) reagánpárosokkal képzett származékainak retenciós rendje és spektruma (7. táblázat: 1. hőfokprogram)



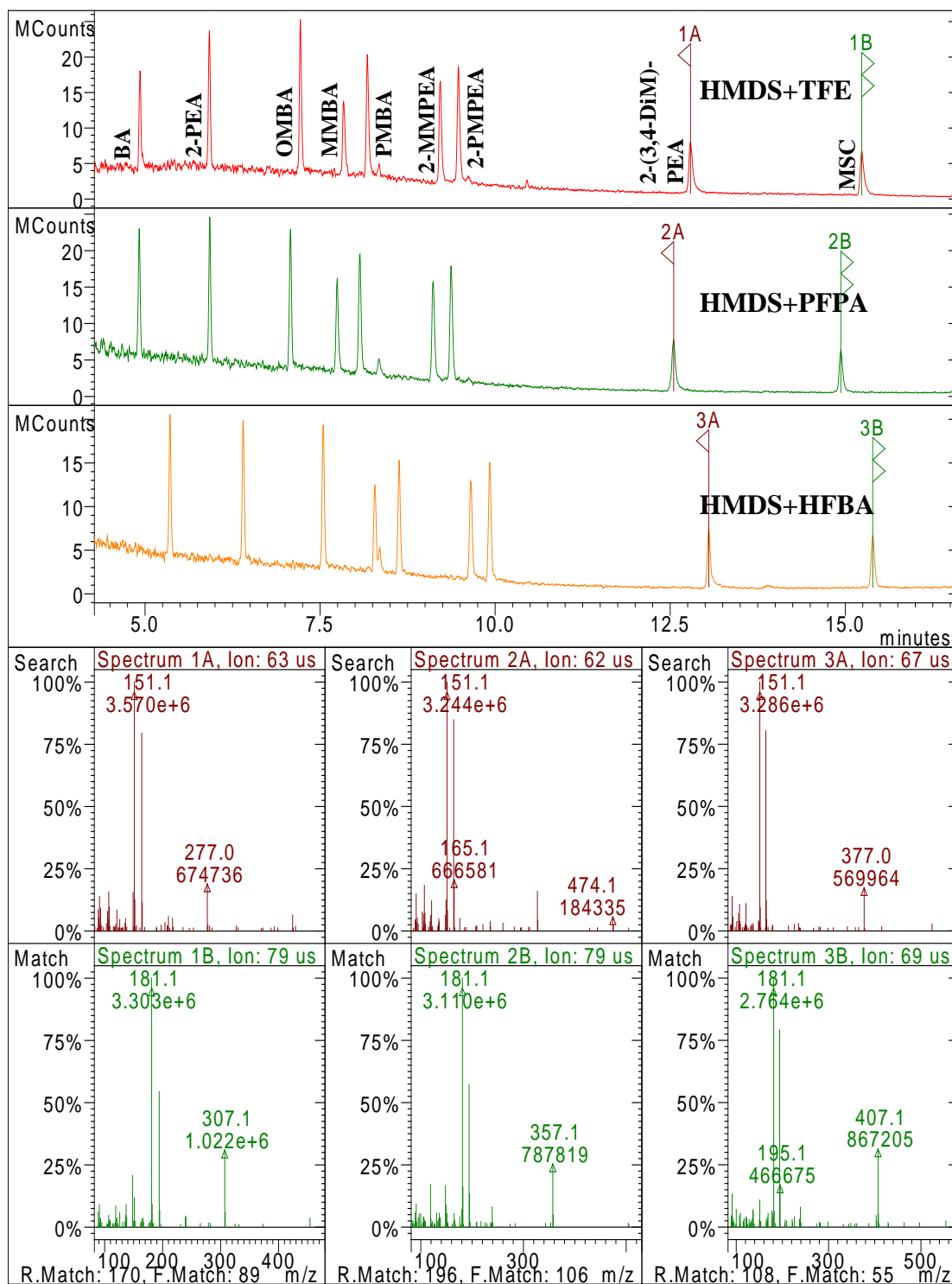
10.b ábra Az OMBA (Spektrum 1A, 2A, 3A) és az MMBA (1B, 2B, 3B) HMDS+perfluorokarbonsav (TFE: 1A, 1B; PFPA: 2A, 2B; HFBA: 3A, 3B) reagánpárosokkal képzett származékainak retenciós rendje és spektruma (7. táblázat: 1. hőfokprogram)



10.c ábra A 3-PPA (Spektrum 1A, 2A, 3A) és a 4-PBA (1B, 2B, 3B) HMDS+perfluorokarbonsav (TFE: 1A, 1B; PFPA: 2A, 2B; HFBA: 3A, 3B) reagánpárossal képzett származékainak retenciós rendje és spektruma (7. táblázat: 1. hőfokprogram)



10.d ábra A 2-MMPEA (Spektrum 1A, 2A, 3A) és a 2-PMPEA (1B, 2B, 3B) HMDS+perfluorokarbonsav (TFE: 1A, 1B; PFPA: 2A, 2B; HFBA: 3A, 3B) reagánpárosokkal képzett származékainak retenciós rendje és spektruma (7. táblázat: 1. hőfokprogram)



10.e ábra A 2-(3,4-DiM)PEA (Spektrum 1A, 2A, 3A) és az MSC (1B, 2B, 3B) HMDS+perfluorokarbonsav (TFE: 1A, 1B; PFPA: 2A, 2B; HFBA: 3A, 3B) reagáns párosokkal képzett származékainak retenciós rendje és spektruma (7. táblázat: 1. hőfokprogram)

10. táblázat A PFAA-szerkezetű vegyületek HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárokkal, valamint TFAA acilezőszerrel képzett származékainak retenciórendje, jellemző fragmentumionjai és válaszjelei

PFAA	származékképzés HMDS+	t_R , min	SFI, m/z			válaszjel, IE/pg x 10 ⁴ *		
			[M] ⁺	[M+147] ⁺	további ionok **	egyenként	átlag (RSD%) [#]	TFAA & (RSD%), /hozam, %/ /&
BA	TFE	4,95	203	350	134, 91	3,93	3,97 (1,02)	1,70 (1,46) /43/
	PFPA	4,92	253	400		3,98		
	HFBA	5,36	303	450		4,01		
2-PEA	TFE	5,93	217	364	104, 91	4,81	4,77 (0,85)	2,56 (0,31) /54/
	PFPA	5,92	267	414		4,73		
	HFBA	6,40	317	464		4,76		
OMBA	TFE	7,22	233	380	136, 121 , 91	4,99	4,94 (0,91)	1,86 (2,13) /38/
	PFPA	7,07	283	430		4,90		
	HFBA	7,54	333	480		4,94		
3-PPA	TFE	7,70	231	378	162, 117 , 105, 91	2,09	2,09 (2,01)	-
	PFPA	7,61	281	428		2,13		
	HFBA	8,13	331	478		2,05		
MMBA	TFE	7,84	233	380	164, 136, 121 , 91	3,88	3,87 (1,19)	1,89 (4,23) /49/
	PFPA	7,74	283	430		3,85		
	HFBA	8,28	333	480		3,79		
PMBA	TFE	8,17	233	380	136, 121 , 91	4,93	4,92 (0,65)	1,73 (3,71) /35/
	PFPA	8,06	283	430		4,94		
	HFBA	8,63	333	480		4,88		
2-MMPEA	TFE	9,21	247	394	134, 121 , 91	3,77	3,73 (1,36)	1,75 (3,65) /47/
	PFPA	9,10	297	444		3,74		
	HFBA	9,65	347	494		3,67		
4-PBA	TFE	9,43	245	392	176, 132, 104 , 91	3,17	3,16 (1,55)	-
	PFPA	9,29	295	442		3,20		
	HPBA	9,87	345	492		3,10		

Jelmagyarázat: ld. Rövidítések, 1-9. táblázat, valamint t_R = retencióidő;

* = a származékképzési és az injektálási párhuzamosok (három-három) válaszjeleinek

átlaga; ** vastagon szedett SFI = a tömegspektrumban jelenlévő legjellemzőbb ion;

= a reagenspárokkal képzett származékok válaszjeleinek átlaga és relatív szórása;

& = származékképzés a 8. táblázat 8. eljárása szerint; hozam, % = az összehasonlítás

alapja – 100 % – a reagenspárokkal képzett termékek válaszjele; a termékek

kromatogramjait és tömegspektrumait a 10.a-e ábra tartalmazza, a piros, zöld és sárga

színek megfeleltethetőek a kromatogramok piros, zöld és sárga színeinek

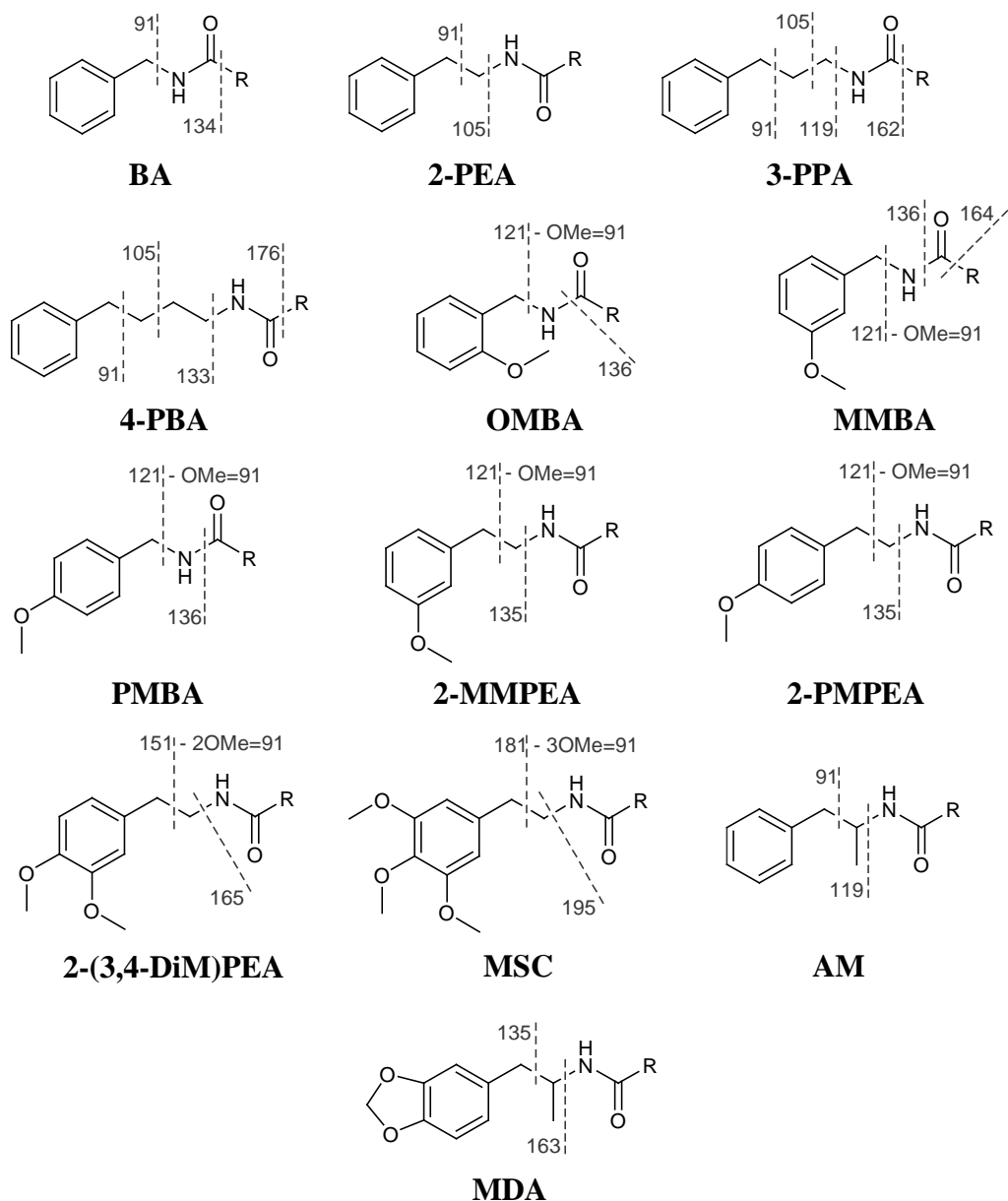
10. táblázat (folytatás)

PFAA	származék- képzés HMDS+	t_R , min	SFI, m/z			válaszjel, IE/pg x 10 ^{4*}		
			[M] ⁺	[M+147] ⁺	további ionok **	egyenként	átlag (RSD%) [#]	TFAA & (RSD%), /hozam, %/ /47/
2-PMPEA	TFE	9,47	247	394	134, 121, 91	4,72	4,70 (0,56)	2,21 (3,71) /47/
	PFPA	9,36	297	444		4,67		
	HPBA	9,92	347	494		4,71		
2-(3,4-DiM)- PEA	TFE	12,79	277	424	164, 151, 91	2,55	2,50 (1,89)	1,10 (2,86) /44/
	PFPA	12,55	327	474		2,46		
	HPBA	13,05	377	524		2,48		
MSC	TFE	15,23	307	454	194, 181, 91	2,26	2,21 (1,97)	1,14 (4,74) /52/
	PFPA	14,94	357	504		2,18		
	HPBA	15,39	407	554		2,19		

Minden célvegyület, mindhárom reagenspárossal képzett termékének tömegspektrumára jellemző a molekulaion ([M]⁺) mellett/helyett megjelenő, annál 147 tömegegységgel nagyobb ([M+147]⁺) fragmens (10.a-e ábra, 10. táblázat), amely a hagyományos acilezési reakciókkal (8. táblázat 8-10. eljárás) képzett származékok spektrumaiból hiányzik. Az m/z 147 ion a szililezőszerből (HMDS) származtatható: (CH₃)₂-Si=O-Si-(CH₃)₃⁺ [107]. A fragmentum ([M+(CH₃)₂-Si=O-Si-(CH₃)₃]⁺) önkémiai ionizáció eredménye, amely egyértelműen azonosítja a célmolekulát, és legtöbbször a válaszjelhez is jelentősen hozzájárul. A termékekre jellemző további fragmensek szerkezete és m/z értékei függetlenek az alkalmazott perfluorokarbonsavtól (10.a-e, 11. ábra, 10. táblázat).

4.2.5 Az új reakció feltételezett mechanizmusa

Feltevésünk szerint a folyamat a 12. ábrán bemutatott mechanizmus szerint megy végbe. A HMDS (12. ábra, **A**) és a perfluorokarbonsav (**B**) közti speciális kölcsönhatás eredményeként, a HMDS szimmetrikus szerkezetének köszönhetően, egy kationos köztitermék (**C**) keletkezik, amely – az Oláh-elméletet [108] példázva – két elektron delokalizációja révén stabilizálódik. Az intermedier (**C**) és a perfluorokarboxilát anion



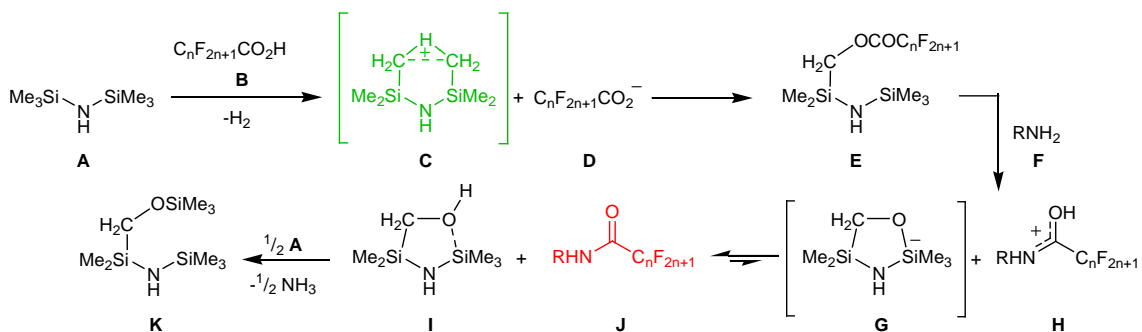
11. ábra A nitrogénen acilezett PFAA-vegyületek fragmentációja

(R = -CF₃, -C₂F₅, -C₃F₇)

(D) reakciójában észter (E) képződik, mely nagy reaktivitása révén képes a primer fenilalkilaminokat (F) a megfelelő perfluoroacilezett (J) származékokká alakítani. A reakcióban keletkező – szabad hidroxilcsoportot tartalmazó – termék (I) a HMDS nagy feleslegében TMS-származékává (J) alakul.

Mint ahogy nem állt rendelkezésünkre olyan gyakorlati eljárás, amellyel a – vélhetően károszéletű – köztitermékek detektálhatók, a feltételezett reakciómechanizmus

igazolására DFT-számításokat [109, 110] (az elmélet B3LYP/6-31 G(d) szintjén) végeztünk. A módszer alapja a rendszer elektronsűrűsége és energiája közti egyértelmű megfeleltethetőség (Hohenberg-Kohn tételek), amelyből molekulák szerkezetére következtethetünk. Az eredmények [111] az intermedierek létezését bizonyítják, ezzel igazolva a reakciómechanizmus valóságát.

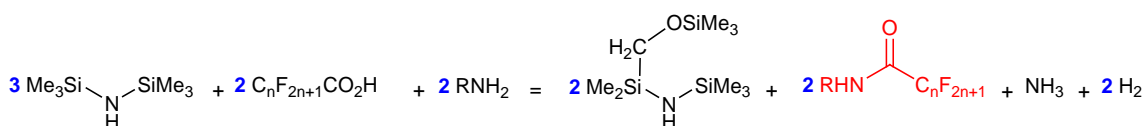


12. ábra A HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárosokkal végzett acilezés feltételezett reakcióútja

A feltételezett reakcióút összhangban van tapasztalataimmal. A HMDS (12. ábra, A) szimmetrikus szerkezete kulcsfontosságú a kationos intermedier (C) keletkezésének szempontjából. Ez a magyarázat arra, hogy a HMDS cseréje más szililezőszerre (MSTFA, BSTFA) nem vezetett az acilezett termékek keletkezéséhez.

Az 12. ábra azt is mutatja, hogy a savas közegnek meghatározó szerepe van a C köztitermék képződésében. Az oldószerválasztás során kiderült, hogy a PYR nem biztosít megfelelő közeget a reakciónak. Feltételezhető, hogy a PYR, mint bázikus karakterű oldószer és a HMDS verseng a protonért: az EtAc és az ACN savkarakterük okán, nem gátolják az acilezést.

Sztöchiometrikus szempontból összegezve a reakciót (13. ábra), kiegészítő bizonyíték, hogy a számolt reagens-mólarány ([HMDS]/[perfluorokarbonsav], n/n) 1,5/1-nek adódik, amely a kísérleteink során optimálisnak mért 0,56/1-2,07/1 (n/n) tartomány része.



13. ábra Az új acilezési reakció sztöchiometriája

4.2.6 Az új acilezési reakció értékelése

A reagenspárokkal kapott válaszjelek értéke (IE/pg)

1. független az alkalmazott perfluorokarbonsavtól; a relatív szórás (RSD %) 0,56 % (2-PMPEA) és 2,01 % (3-PPA) között változott (10. táblázat: 8. oszlop);
2. egységesen nagy, amely a molekulaion ($[M]^+$) és/vagy az – önkémiai ionizáció révén keletkező – $[M+147]^+$ ion jelenlétének köszönhető;
3. jelentősen nagyobb, mint TFAA-t alkalmazva (10. táblázat: 9. oszlop), melynek oka az $[M+147]^+$ ionból eredő hozzájárulás hiánya, valamint a reagensfelesleg eltávolításából származó anyagveszteség, amely TFAA használata során legkevesebb 46 % (2-PEA) volt (10. táblázat: 9. oszlop).

Az új eljárás előnye (i) rendkívüli szelektivitása a PFAA-szerkezetű vegyületekre; (ii) az anyagveszteség elkerülhetősége, minthogy nem keletkeznek olyan melléktermékek, amelyek eltávolítása szükségzerű a GC-MS rendszerbe injektálást megelőzően; (iii) következésképp munka-, idő-, költséghatékony, s a "zöld kémia" elvárásainak megfelelő.

Az új származékképzési reakció vizeletmátrixban meghatározott analitikai teljesítményjellemzőit (R^2 , LOQ) a 11. táblázatban mutatom be. Az LOQ 6,1-31 ng/mL (átlag: 12,4 ng/mL), az R^2 értéke 0,9986-0,9999 (átlag: 0,9993) tartományban változik. A származékok stabilitását két héten keresztül vizsgáltam, mely idő alatt stabilnak bizonyultak.

4.3 A PFAA-vegyületek TMS-származékká alakítása

Míthogy a kutatócsoportunk által korábban sokoldalúan, trimetilszililezésre használt HMDS+TFE [101-104] reagenspár a PFAA-szerkezetű vegyületek esetében nem várt, szelektív acilezéshez vezetett [111], TMS-származékká alakításuk céljára más reagenst kellett találnom. Az irodalmi előzményekből és a bevezető vizsgálatokból tudott, hogy MSC és 1 % TMCS tartalmú MSTFA reakciójában (8. táblázat: 13. eljárás) MSC-2TMS termék keletkezik [106]. Ismert, hogy a szililezési reakciót a PYR oldószer katalizálja [99]. A TMCS-t PYR-re cserélve, MSTFA/PYR = 2/1 (v/v) térfogatarányú elegyével (8. táblázat: 15. eljárás), a várt MSC-2TMS származékot kaptam.

Hangsúlyozandó, hogy az irodalom részletes áttekintése során (2.2. fejezet) egyetlen olyan publikációt sem találtam, amelyben a kutatók az MSC-hez hasonlóan primer aminocsoporttal rendelkező AM-t és/vagy MDA-t 2TMS-származékaikként határozták volna meg. Felmerült a kérdés, megvalósítható-e kvantitatív analitikai körülmények között az AM és MDA vegyületek két-két aktív protonjának TMS-szubsztitúciója.

Első megközelítésben az AM-t és az MDA-t MSTFA/PYR = 2/1 (v/v) térfogatarányú elegyével reagáltattam (8. táblázat: 15. eljárás). A vegyületek TMS-származékait az irodalmival összevetett tömegspektrumok alapján azonosítottam [83-85, 90]. Két héttel később később analizáltam a mintát, s meglepve tapasztaltam, hogy a TMS-származékok részben 2TMS-termékekké alakultak. Az MDA-2TMS-t számított SFI ionjai, az AM-2TMS-t a NIST spektrumkönyvtár alapján azonosítottam. A NIST nem utal sem a szerző(k)re, sem arra, hogy analitikai körülmények között, vagy preparatív úton előállított AM-2TMS termékről van-e szó. Újabb irodalomkutatás eredményeként egy német kutatócsoport dizájnerdrogok spektrumait tartalmazó elektronikus könyvtárában ráakadtam az AM-2TMS spektrumára [112]. A szerző, P. Rösner személyes közlése alapján tudjuk, hogy a 2TMS-származékot A-TMS mellett, a szililezési reakció melléktermékeként azonosították. Mindebből arra következtethetünk, hogy az AM- és MDA-TMS hajlamos a szililezőszer feleslegével továbbreagálni, AM- és MDA-2TMS termékeket eredményezve. Ez a folyamat rontja az AM és MDA kábítószerek TMS-származékokkénti mennyiségi meghatározásának hitelességét.

Célul tűztem ki az AM és az MDA 2TMS-termékeinek kvantitatív képződéséhez vezető származékká alakítási feltételek (reagens-összetétel, reakcióhőfok és -idő) felderítését.

4.3.1 A 2TMS-származékká alakítás optimális körülményeinek feltárása

A származékképzés megfelelő reagens-összetételének tanulmánya során 11 PFAA-vegyület (BA, 2-PEA, AM, OMBA, MMBA, PMBA, 2-MMPEA, 2-PMPEA, MDA, 2-(3,4-DiM)PEA, MSC) reakcióját vizsgáltam

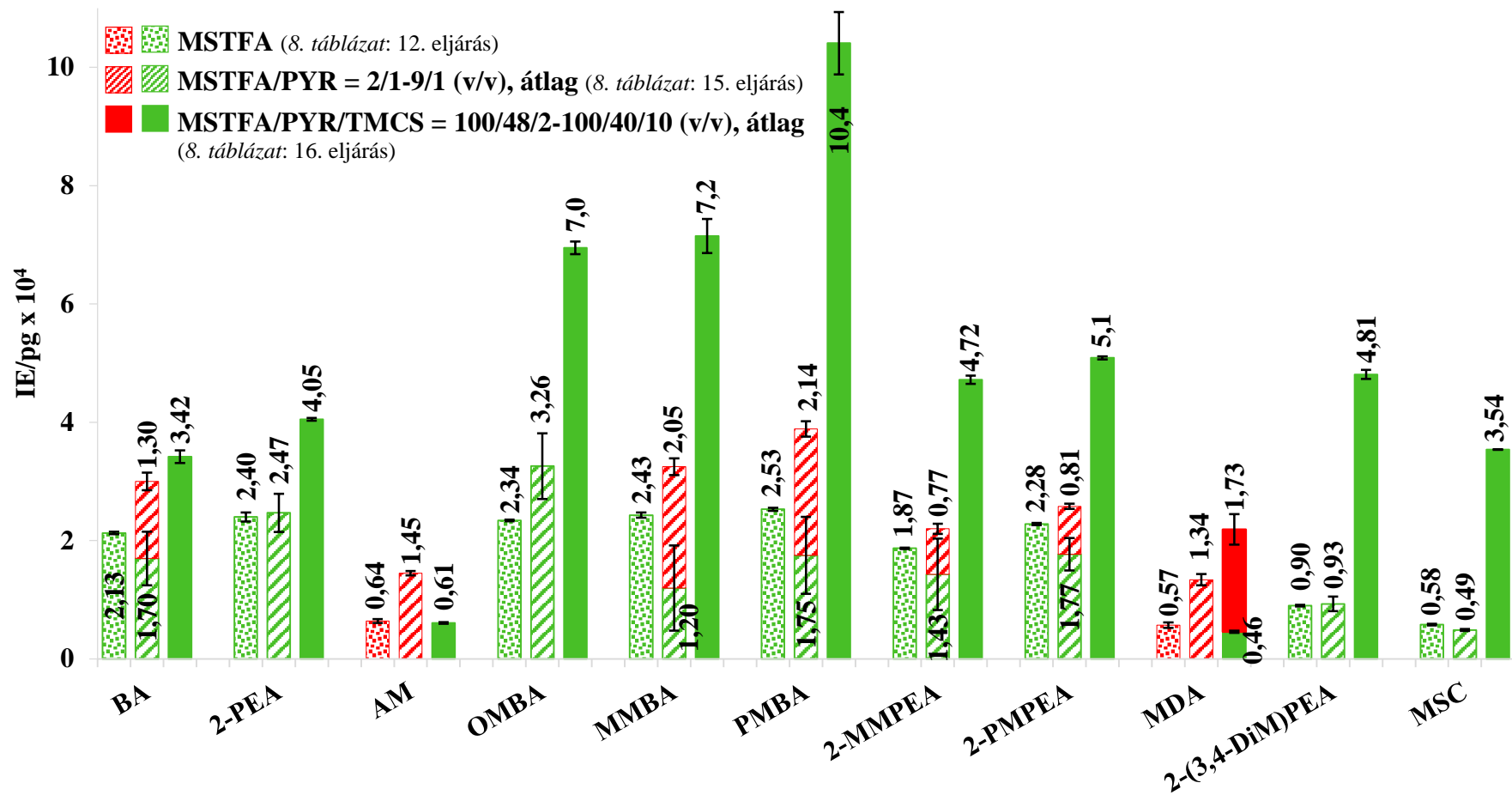
1. MSTFA-val, oldószermentes közegben (8. táblázat: 12. eljárás);
2. MSTFA/EtAc = 2/1 (v/v) (8. táblázat: 18. eljárás);
3. MSTFA/PYR = 2/1 - 9/1 (v/v) (8. táblázat: 15. eljárás);
4. MSTFA/PYR/TMCS = 100/48/2 - 100/40/10 (v/v) térfogatarányú elegyével (8. táblázat: 16. eljárás).

Tiszta MSTFA használatakor, oldószer és katalizátor nélkül, 2TMS-származékok keletkeztek (14. ábra: zöld, pettyezett oszlopok), kivéve az AM és az MDA vegyületeket, amelyek az irodalmi előzményeknek megfelelően [84-87, 90], TMS-származékaikként eluálódtak (14. ábra: piros, pettyezett oszlopok).

Oldószerként EtAc-ot alkalmazva, minden vizsgált PFAA TMS-származékává alakult.

PYR oldószerben a 2-PEA, OMBA, 2-(3,4-DiM)PEA és MSC vegyületek 2TMS-származékainak képződését tapasztaltam (14. ábra: zöld, csíkozott oszlopok). A BA, MMBA, PMBA, 2-MMPEA és 2-PMPEA aminokból vegyes termékek keletkeztek, vagyis TMS- és 2TMS-származékaikat egyaránt detektáltam (14. ábra: piros és zöld, csíkozott oszlopok). Az AM és az MDA kábítószerek PYR közegben is kizárólag TMS-termékeket eredményeztek.

TMCS katalizátor jelenlétében egységesen 2TMS-származékokat kaptam (14. ábra: zöld oszlopok), kivétel az MDA-ból, amely TMS- és 2TMS-származéka egyaránt keletkezett (14. ábra: piros és zöld oszlop), még akkor is, amikor a TMCS térfogata az MSTFA 10 %-a volt. Az AM-ből kizárólag 2TMS-származék képződött (14. ábra: zöld oszlop), jóllehet válaszjele jelentősen elmaradt a PYR közegben keletkező AM-TMS-től (14. ábra: piros, csíkozott oszlop). Feltételezhető tehát, hogy a 2TMS-képződés



14. ábra A PFAA-vegyületek válaszjelei (IE/pg) különböző reagens-összetételek (8. táblázat: 12., 15., 16. eljárások) alkalmazásával (Jelmagyarázat: ld. Rövidítések, valamint piros = TMS-származék; zöld = 2TMS-származék; a feltüntetett válaszjelek a származékképzési és injektálási párhuzamosok átlagértékei)

ilyen körülmények között nem teljes.

Összegezve: a primer aminocsoportot nem láncvégi szénatomon tartalmazó AM és MDA kábítószerek mennyiségi 2TMS-származékká alakításához nem elegendő a PYR oldószer és a TMCS katalizátor, erősebb reagens-összetétel kívánatos.

4.3.2 Az AM és az MDA származékképzési tanulmánya

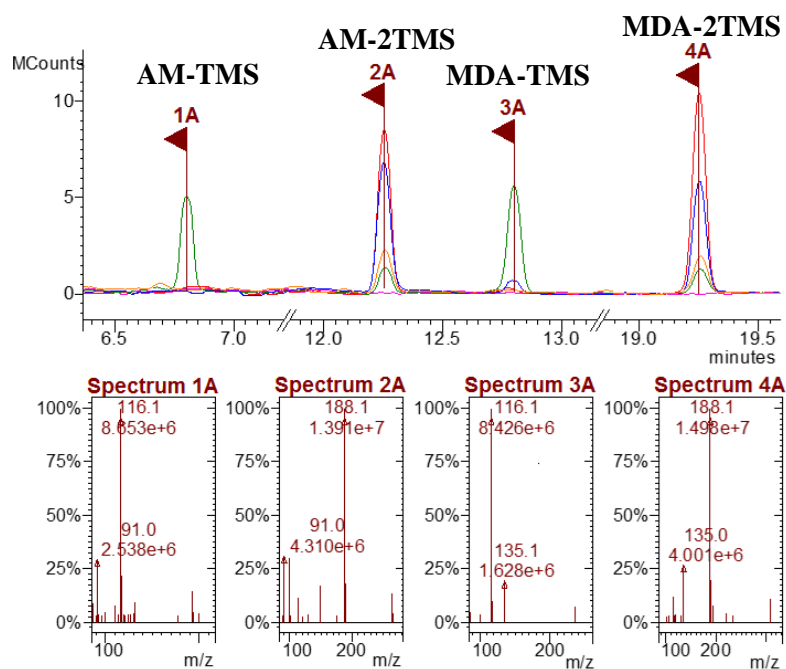
A TMCS-t hatékonyabb katalizátorra, TMIS-re cseréltem: MSTFA^{TMIS}-t használtam

1. oldószer nélkül (8. táblázat: 14. eljárás); valamint
2. PYR (8. táblázat: 17. eljárás), EtAc (8. táblázat: 19. eljárás) vagy ACN (8. táblázat: 20. eljárás) jelenlétében.

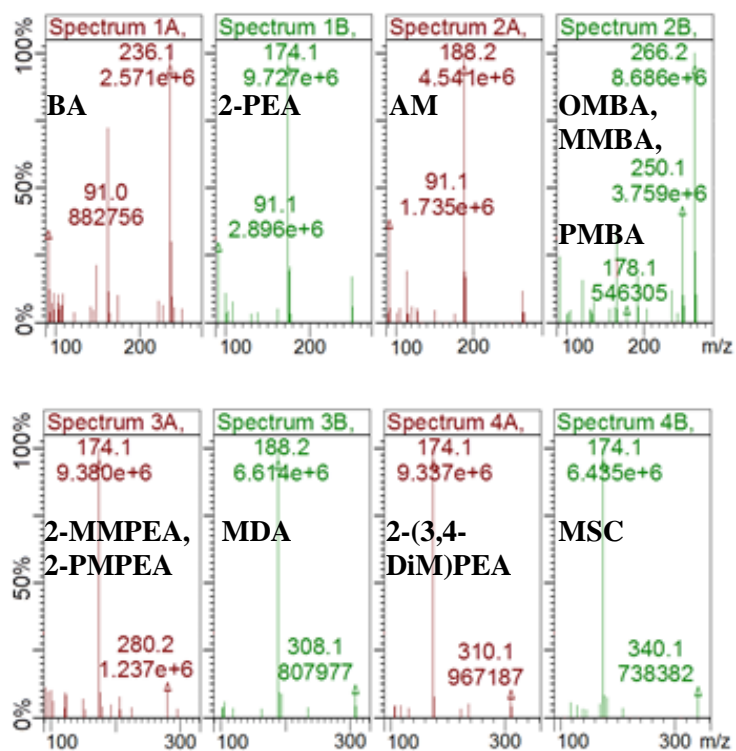
EtAc (15. ábra: zöld kromatogram) oldószerben az AM és az MDA átalakulása nem teljes, TMS- és 2TMS-származékok egyaránt keletkeztek (15. ábra: spektrum 1A, 2A, 3A, 4A). ACN-ben (15. ábra: kék kromatogram) az AM kizárólag 2TMS-származékot eredményezett (15. ábra: spektrum 2A), de az MDA-ból TMS- és 2TMS-termék is keletkezett (15. ábra: spektrum 3A, 4A). Oldószermentes közegben (15. ábra: sárga kromatogram) és PYR jelenlétében (15. ábra: piros kromatogram) csak 2TMS-termékeket detektáltam (15. ábra: spektrum 2A, 4A); minthogy PYR-ben a válaszjelek jelentősen (~10-szer) nagyobbak, végső választásom a PYR volt.

A reakciót 70, 80, 90 és 100 °C hőfokon, 10, 20, 30, 60 és 90 percig (8. táblázat: 17. eljárás) végeztem. Legalkalmasabbnak a 90 °C hőfokon, 60 percig tartó szililezést találtam.

A PFAA-vegyületek 2TMS-származékainak spektrumait a 16. ábra, jellemző fragmentumait a 11. táblázat, a molekulatöredékek szerkezetét a 17. ábra mutatja.



15. ábra Az AM és az MDA vegyületek reakciója MSTFA^{TMS} reagenssel, oldószermentes közegben (sárga), valamint EtAc (zöld), ACN (kék) és PYR (piros) oldószerek jelenlétében; pink: "műveleti üres" (7. táblázat: 2. hőfokprogram)

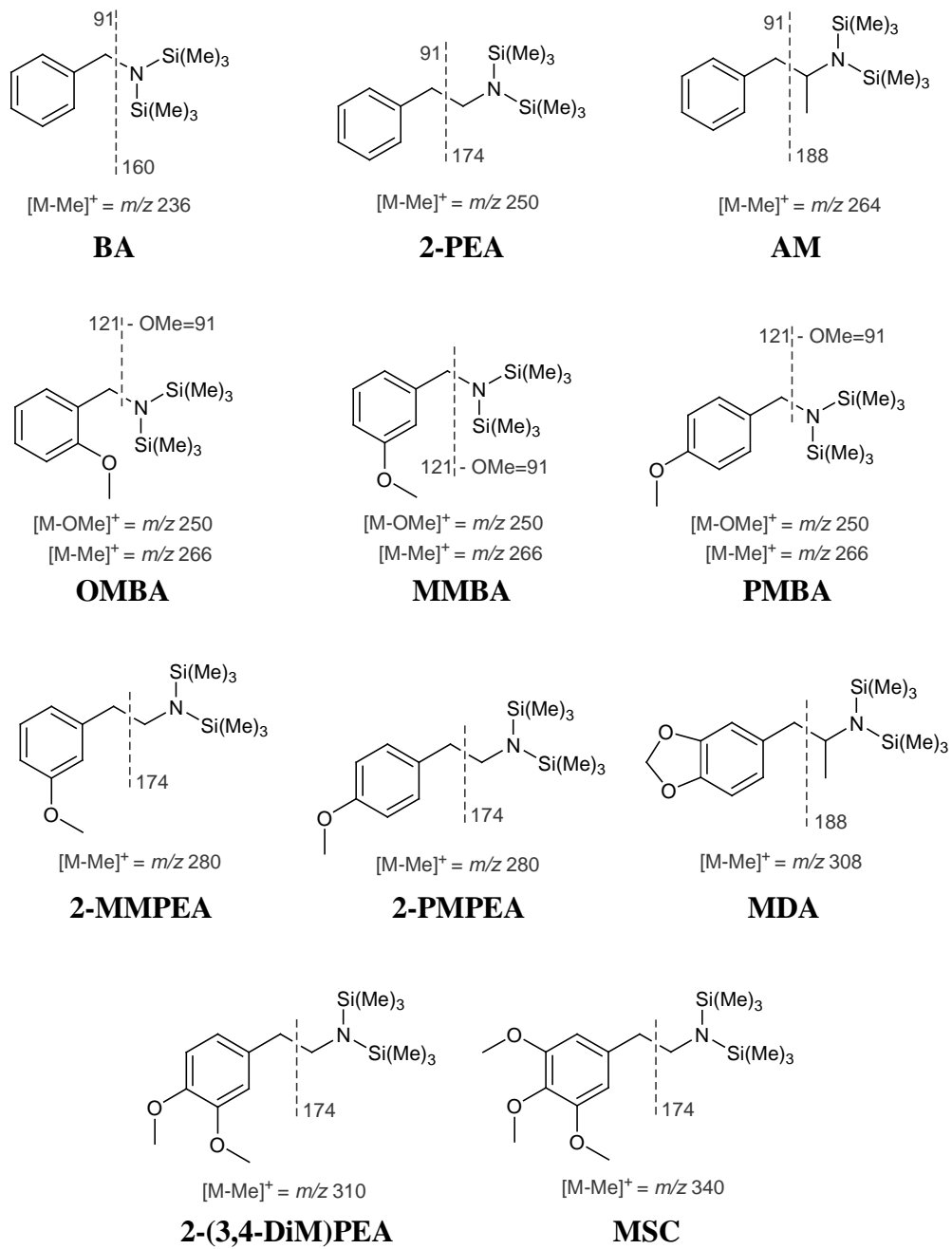


16. ábra A PFAA-2TMS származékok tömegspektrumai

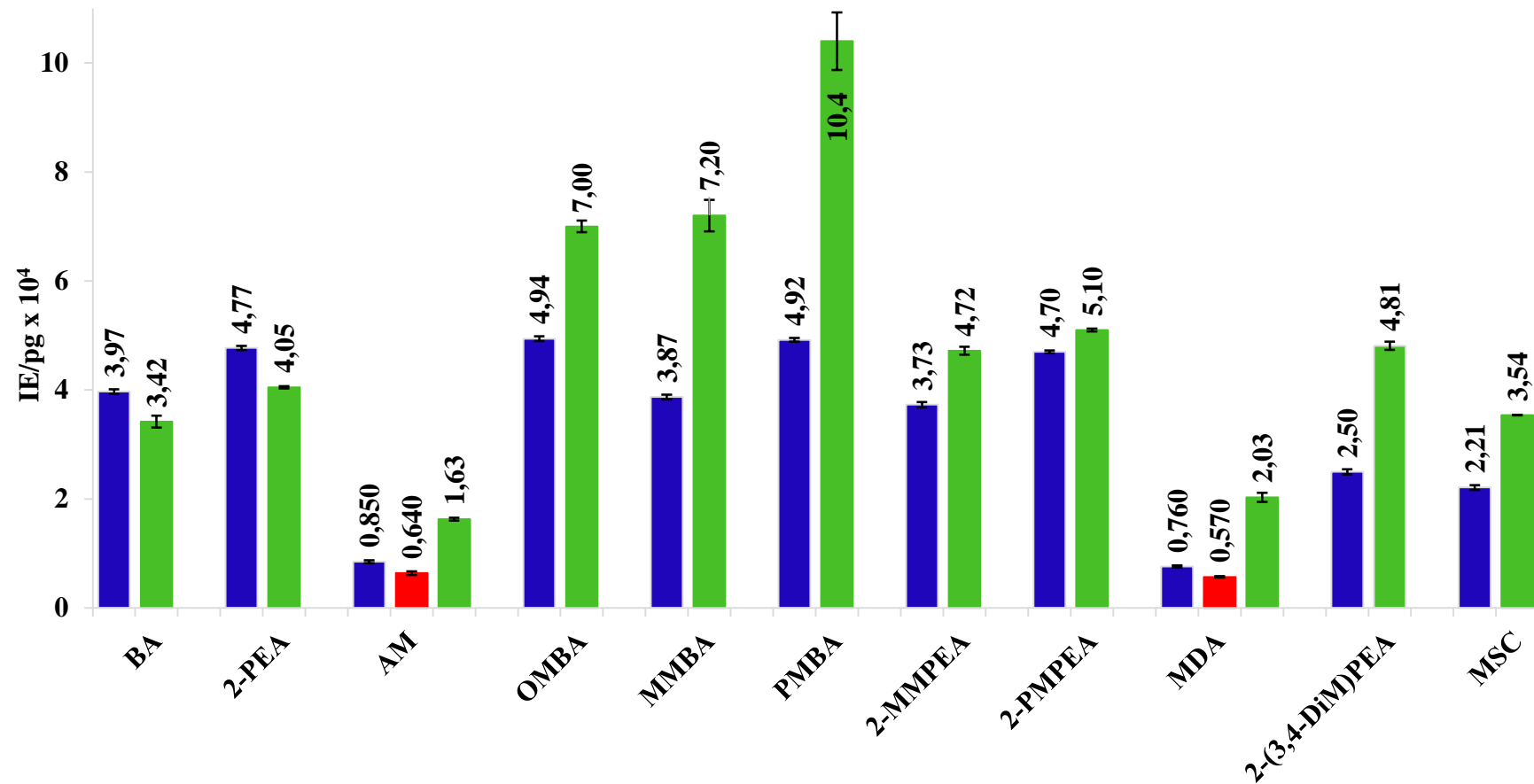
11. táblázat A PFAA-szerkezetű vegyületek TFA- és 2TMS-származékainak retenciós rendje és jellemző fragmentumionjai; a származékképzési eljárások analitikai teljesítményjellemzőinek (LOQ és R^2) összehasonlítása

PFAA	szárma- zék	t_R , perc	SFI, m/z		analitikai jellemzők	
			[M] ⁺	további ionok*	LOQ, ng/mL	R^{2**}
BA	TFA	5,73	&		6,7	0,9997
	2TMS	8,85	251	236, 160, 91	6,0	0,9999
2-PEA	TFA	6,82	&		7,4	0,9989
	2TMS	11,24	265	250, 174, 91	6,3	0,9991
AM	TFA	6,86	&		31	0,9991
	2TMS	12,24	279	264, 188, 91	16	0,9993
OMBA	TFA	8,32	&		8,5	0,9988
	2TMS	12,10	281	266, 250, 121, 91	6,0	0,9993
MMBA	TFA	9,08	&		11	0,9999
	2TMS	12,74	281	266, 250, 121, 91	5,9	0,9995
PMBA	TFA	9,48	&		13	0,9993
	2TMS	13,39	281	266, 250, 121, 91	6,0	0,9998
2-MMPEA	TFA	10,59	&		7,1	0,9999
	2TMS	15,73	295	280, 174	5,6	0,9995
2-PMPEA	TFA	10,92	&		6,1	0,9995
	2TMS	16,23	295	280, 174	5,6	0,9996
MDA	TFA	12,69	&		22	0,9986
	2TMS	19,26	323	308, 188	8,4	0,9998
2-(3,4-DiM)PEA	TFA	14,42	&		16	0,9994
	2TMS	19,42	325	310, 174,	8,3	0,9995
MSC	TFA	16,77	&		7,7	0,9991
	2TMS	21,59	355	340, 174	4,8	0,9991

Jelmagyarázat: ld. Rövidítések, 1-10. táblázat, valamint * vastagon szedett SFI = a tömegspektrum (16. ábra) legjellemzőbb ionja (a fragmenseknek megfelelő molekularészeket a 17. ábra mutatja); ** = az LOQ - 4 $\mu\text{g/mL}$ koncentrációtartományban meghatározott regressziós egyenes R^2 értéke; & = az ionok részletes felsorolása a 10. táblázatban



17. ábra A PFAA-2TMS származékok fragmentációja



18. ábra Az új eljárások hatékonyságának összehasonlítása: a PFAA-szerkezetű vegyületek TFA- (kék) és 2TMS- (zöld), valamint az AM és MDA szakirodalomban javasolt módszerrel készült TMS-származékainak (piros) válaszjelei; az ábra kék és zöld színei megfelelnek a 11. táblázat kék és zöld színeinek; a feltüntetett válaszjelek a származékképzési és injektálási párhuzamosok átlagértékei

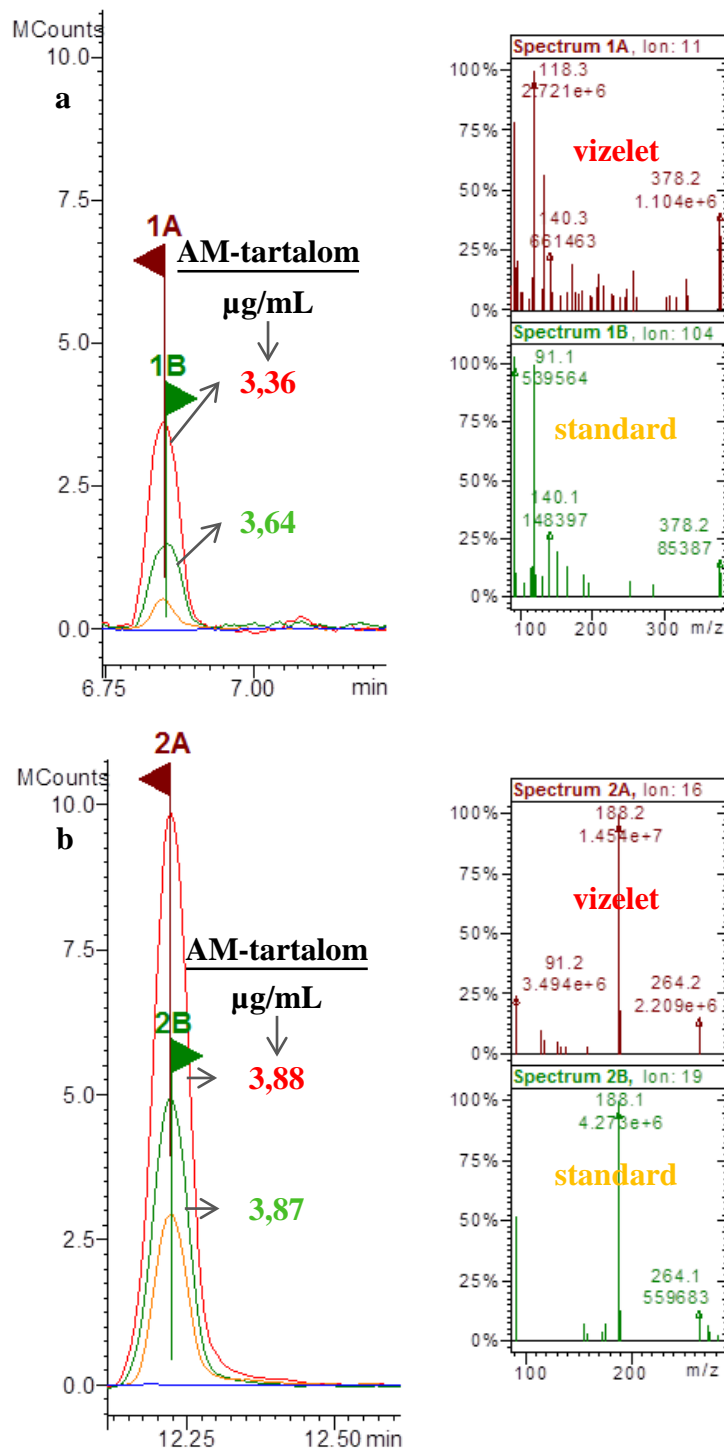
4.3.3 Az új szililező eljárás értékelése

Az új eljárás előnyeit a 2TMS-termékek és a HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárosokkal képzett acilezett származékok válaszjeleinek (IE/pg) összehasonlítása útján elemeztem (15. ábra): a PFAA-2TMS válaszjelei átlagosan ~1,7-szer (kiemelve a három kábítószeramint AM: 1,9-szer, MDA: 2,7-szer, MSC: 1,6-szor) nagyobbak, mint a HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárokkal képzett termékeké.

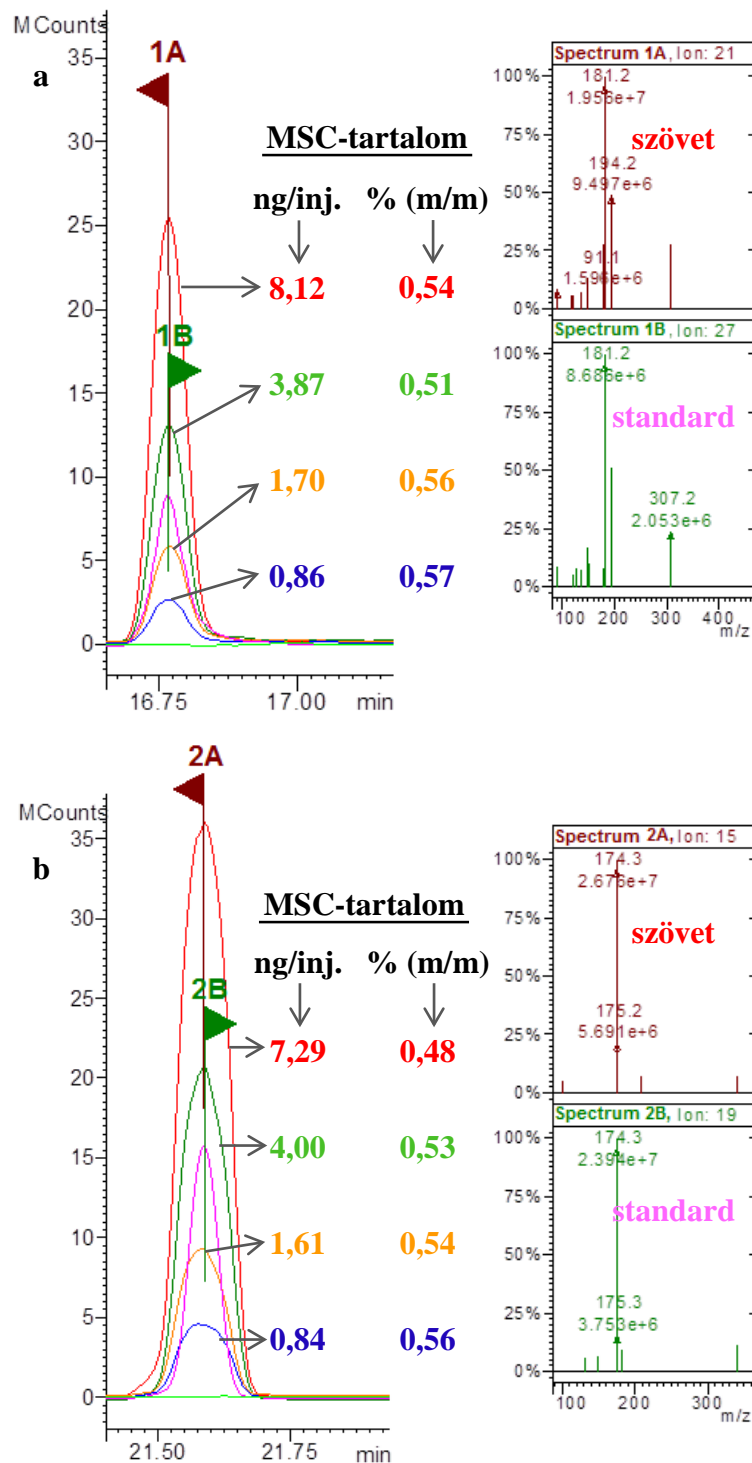
Az AM és MDA vegyületek 2TMS-származékainak válaszjeleit a megfelelő TMS-termékekével – melyeket az irodalomban javasolt eljárással, MSTFA-val oldószermentes közegben képeztünk (8. táblázat: 12. eljárás) – is ütköztettük: az AM-2TMS válaszjele ~2,5-szer ($1,63 \times 10^4$ vs. $0,64 \times 10^4$), az MDA-2TMS-é ~3,5-szer ($2,03 \times 10^4$ vs. $0,57 \times 10^4$) nagyobb, mint a megfelelő TMS-termékeké.

A reakció ismételhetségére az RSD % értékek alapján következtethetünk, mely a 2TMS-termékek esetén 0,10-5,0 % (átlag: 2,14 %) között, az acilezett-származékok esetén 0,56-3,12 % (átlag: 1,49 %) között változott. Az új származékképzési reakció vizeletmátrixban meghatározott analitikai teljesítményjellemzőit (R^2 , LOQ) a 11. táblázatban mutatom be, amelyből egyúttal az is kitűnik, hogy a két új eljárás közül a 2TMS-képzés érzékenyebb. Az LOQ 4,8-16 ng/mL (átlag: 7,2 ng/mL) között, az R^2 értéke 0,9991-0,9999 (átlag: 0,9995) között változott. A származékok stabilitását két héten keresztül vizsgáltam, mely idő alatt stabilak voltak.

A 2TMS-származékképzés acilezéshez viszonyított előnyeit vizeletminta (4.4.4.1. fejezet) AM- (19.a-b ábra) és *Lophophora williamsii* kaktusz minta (4.4.5.1. fejezet) MSC- (20.a-b ábra) tartalmának meghatározása útján mutatom be. A két ábra szemlélteti, hogy ditrimetilszililezés útján jelentősen érzékenyebb az összetevők meghatározása.



19. ábra Vizeletminta AM-tartalmának meghatározása a vegyület TFA- (a) és 2TMS-származékaként (b): a vizeletben található AM koncentrációja 3,69 µg/mL, RSD %: 6,7 (7. táblázat: 2. hőfokprogram; jelmagyarázat: zöld = 0,50 mL vizelet; piros = 1,0 mL vizelet; sárga = 1 µg/mL koncentrációban standard AM-t tartalmazó, 1,0 mL vizelet; kék = "műveleti üres")



20. ábra A *Lophophora williamsii* MSC-tartalmának meghatározása a vegyület TFA-
(a) és 2TMS-szarmazékként (b): a kaktusz MSC-tartalma 0,54 % (m/m), RSD %: 5,5
(7. táblázat: 2. hőfokprogram, jelmagyarázat: piros = 1,51 $\mu\text{g/inj.}$; zöld = 755 ng/inj. ;
sárga = 302 ng/inj. ; kék = 151 ng/inj. liofilizált szövet; pink = 1,92 ng/inj. MSC
standard; halványzöld = "műveleti üres")

4.4 A *Catha edulis* cserje khataminjainak meghatározása

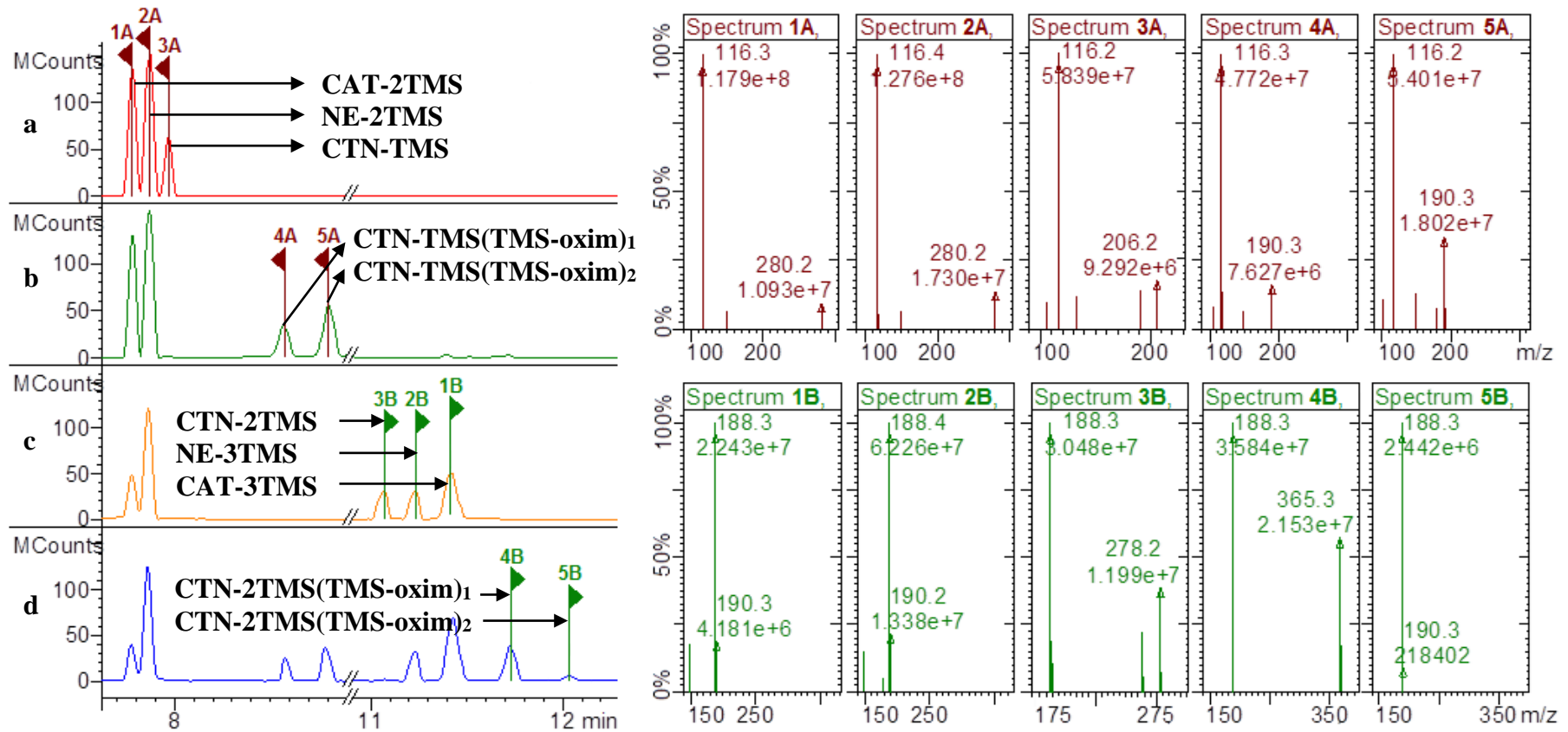
A khataminok GC-MS meghatározásának irodalmi előzményeit látva (2.1.3. fejezet, 2. táblázat) nem kétséges, hogy az eddig alkalmazott eljárások kiegészítésre szorulnak [24-28]. A közleményekből kiderül, hogy (i) a *Catha edulis* mintákból, rendkívül időigényes extrakciós technikákkal kivont vegyületeket eredeti formájukban vagy TMS-származékaikként (CTN-TMS, CAT-2TMS, NE-2TMS) mérték; (ii) a khataminok azonosítása egységesen az MSTFA reagensből származó m/z 73 ion alapján történt [27, 28]; (iii) a származékok elválasztása csak részleges.

Célul tűztem ki, az irodalomban található hiány pótlásaként, olyan GC-MS eljárás kidolgozását, amely lehetővé teszi a *Catha edulis* khatamin-tartalmának gyors és megbízható meghatározását.

4.4.1 A khataminok származékképzési tanulmánya

Első megközelítésben a standard khatamin vegyületeket MSTFA-val reagáltattam (8. táblázat: 15. eljárás). Az irodalmi előzményeknek megfelelően, az aminocsoporton egyszeresen szubsztituált TMS-származékok keletkeztek: CTN-TMS, CAT-2TMS, NE-2TMS (21.a ábra). A GC paraméterek (kolonna- és injektor-hőfokprogram) változtatásával sem sikerült az irodalminál hatékonyabb elválasztást elérnem. Arra a következtetésre jutottam, hogy célt csakis a származékképzési eljárás változtatása útján érhetek.

A reakciót BSTFA-val (8. táblázat: 21. eljárás) vagy TMCS katalizálta MSTFA-val végezve (8. táblázat: 16. eljárás) ugyancsak a CTN-TMS, CAT-2TMS és NE-2TMS termékek képződését tapasztaltam. Minthogy a CTN, CAT és NE vegyületek PFAA-szerkezetűek, feltételeztem, hogy MSTFA^{TMS} reagenst alkalmazva (8. táblázat: 17. eljárás) CTN-2TMS, CAT-3TMS és NE-3TMS származékok keletkeznek. Reméltem, hogy a minden aktív hidrogén helyén TMS-szubsztituált vegyületek GC elválasztása hatékonyabb lesz, mint az irodalomban bemutatott CTN-TMS, CAT-2TMS és NE-2TMS termékeké. A feltételezés igazolódott, a primer aminocsoporton kétszeresen TMS-szubsztituált termékek jól elváltak egymástól, azonban a reakció még nagyon erélyes (100 °C, 120 perc) körülmények között sem eredményezett egységes származékokat (kivéve a CTN): a CTN-2TMS, CAT-3TMS és NE-3TMS termékek mellett azonosítottam a CAT-2TMS és NE-2TMS vegyületeket is (21.b ábra).



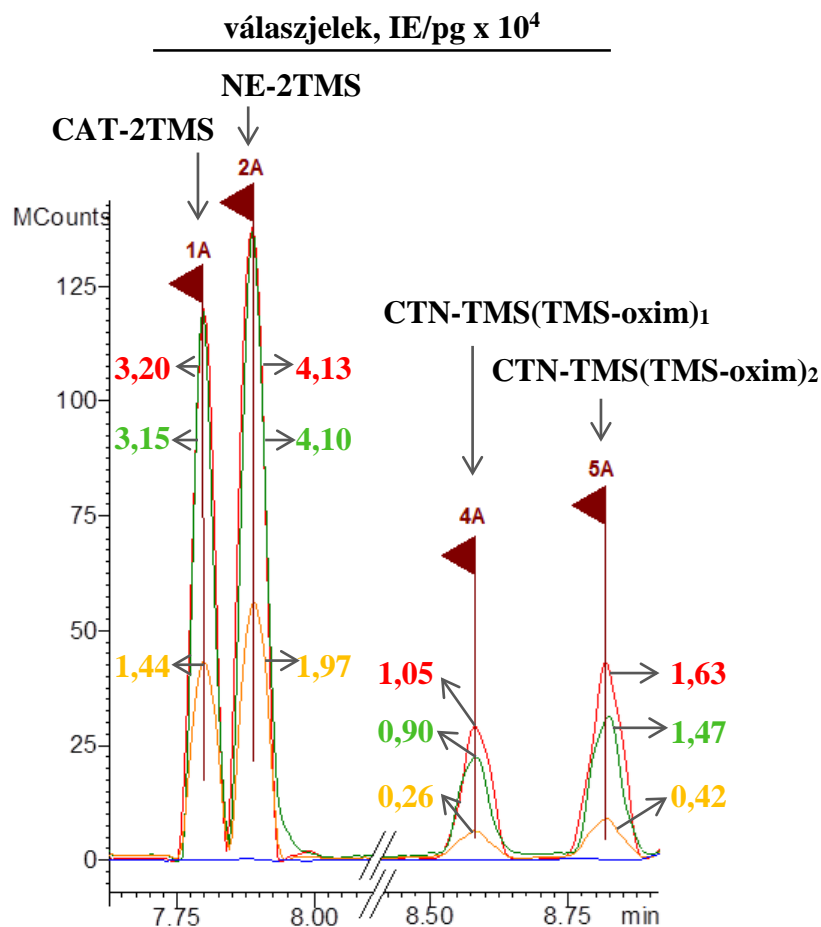
21. ábra A khataminok szililezett (a, c) és oximált-szililezett (b, d) származékainak retenciós rendje és spektruma; az oximmá alakítás reagense HOA-HCl (b, d), a TMS-képzésé MSTFA (a, b) vagy MSTFA^{TMS} (c, d) (7. táblázat: 3. hőfokprogram)

A CTN molekulaszervezete, karbonil-csoportja révén alapvetően különbözik a CAT és NE aminokétól. A funkciós csoport megléte mindeddig kihasználatlan maradt a vegyület kvalitatív és kvantitatív analízise során. Ismert, hogy az oxovegyületek HOA-HCl reagenssel oximokká alakíthatók. Az így kapott termékek szililezésével oxim-szilil-származékok keletkeznek [99]. A HOA-HCl mellett más reagenseket – leggyakrabban metoxiamin-hidrokloridot – is használnak az oximáláshoz, ám kutatócsoportunk korábbi tapasztalatai alapján a HOA-HCl a legtöbb vegyület esetén összemérhetően nagyobb válaszjeleket eredményez [101-103], így az értekezésben bemutatott valamennyi oximálás során ezt a reagenst alkalmaztam (8. táblázat: 22. eljárás).

A CTN oximmá alakítása után a vegyületeket HMDS (8. táblázat: 1. eljárás), BSTFA (8. táblázat: 21. eljárás), MSTFA (8. táblázat: 15. eljárás) vagy MSTFA^{TMIS} (8. táblázat: 17. eljárás) reagensekkel szilileztem. A HMDS-sel, MSTFA-val vagy BSTFA-val képzett CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} és az MSTFA^{TMIS} reagenssel kapott CTN-2TMS(TMS-oxim)_{1,2} származékok az *E*-/*Z*- izomereknek (1,2) megfelelően két csúcsban eluálódtak, s a csúcsok jól elváltak egymástól, valamint a CAT-2TMS és NE-2TMS (MSTFA, BSTFA, HMDS), vagy a CAT-3TMS és NE-3TMS (MSTFA^{TMIS}) termékektől. Az MSTFA^{TMIS} alkalmazásakor, az oximálás nélküli származékképzéshez hasonlóan, vegyes termékek keletkeztek: a CTN-2TMS(TMS-oxim)_{1,2}, CAT-3TMS és NE-3TMS mellett azonosítottam a CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2}, CAT-2TMS és NE-2TMS származékokat is (21.c-d ábra).

Összegezve: a CTN jól elválasztható metabolitjaitól (CAT és NE) CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} származékaként (21.b ábra), amelyhez HOA-HCl reagenssel végzett oximmá alakítást követően, MSTFA-val való szililezés útján jutottam.

A HMDS, BSTFA és MSTFA reagenseket összehasonlítva (22. ábra) a CAT-2TMS és NE-2TMS válaszjelek MSTFA-t vagy BSTFA-t alkalmazva összemérhetőek, míg HMDS-t használva jelentősen kisebbek voltak. A CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} válaszjelek MSTFA>BSTFA>HMDS sorrendben csökkentek. Az oximmá alakítást követő szililezésre az MSTFA reagenst választottam.

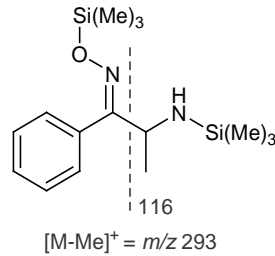


22. ábra A CAT-2TMS, NE-2TMS és CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} származékok válaszjelei az alkalmazott szililezőszer – MSTFA, BSTFA, HMDS – függvényében (7. táblázat: 3. hőfokprogram; jelmagyarázat: piros = MSTFA; zöld = BSTFA; sárga = HMDS; kék = műveleti üres)

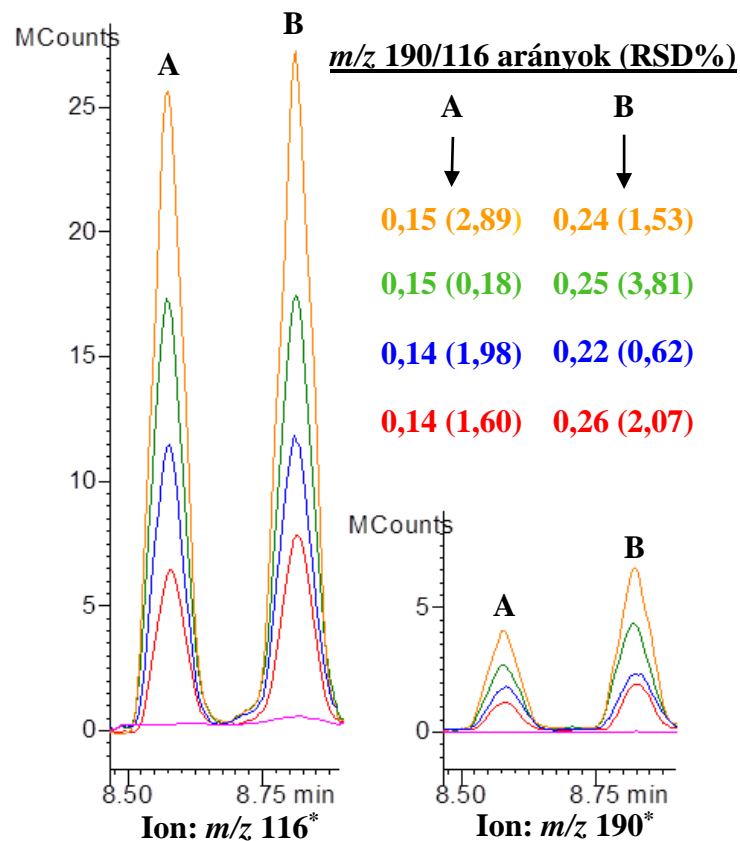
Az oximálást 70, 85 és 100 °C hőfokon, 30, 60, 90 és 120 percig, a trimetilszililezést 70, 80 és 90 °C hőfokon, 30, 60 és 90 percig végeztem. Optimálisnak a 70 °C hőfokon, 30 percig tartó oximálást, majd az oldat szobahőfokra hűtését követően, 70 °C hőfokon, 30 percig végzett szililezést tekintettem.

A korábbi tanulmányokban [24-28] nem szereplő CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} származék tömegspektrumát elemezve (21. ábra: spektrum 4A, 5A, 12. táblázat), a fragmensek a 23. ábrán bemutatott molekuláriszkeletonoknak feleltethetőek meg. Az m/z 190 ion keletkezése feltehetően intramolekuláris kölcsönhatások eredménye, a mechanizmus pontos megértéséhez további, hasonló szerkezetű vegyületek (CTN-

típusú dizájnertdrogok, ld. 5.5. fejezet) vizsgálata szükséges. Az *E*-/*Z*-izomerek spektrumaiban abundáns m/z 116 és m/z 190 ionok aránya injektálásonkénti 750-3000 pg tartományban független a termék GC-MS rendszerbe juttatott mennyiségétől (24. ábra).



23. ábra A CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} fragmentációja



24.ábra A CTN-TMS(TMS-oxime)₁- (A) és a CTN-TMS(TMS-oxime)₂-származékok (B) kromatogramja, injektálásonként 750 pg (piros), 1500 pg (kék), 2250 pg (zöld) és 3000 pg (sárga) tartalmú mintákból; a felvételeket az m/z 116 vagy 190 SFI ionok (*) alapján értékelve; pink = "műveleti üres"

(7. táblázat: 3. hőfokprogram)

4.4.2 A khataminok meghatározására alkalmas új eljárás értékelése

Az új eljárás legfőbb előnye (i) a kromatográfiás elválasztás hatékonyságának és (ii) a meghatározás érzékenységének javítása: a CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} oximált csúcsok válaszjeleinek összegét ($2,68 \times 10^4$ IE/pg) összehasonlítva a CTN-TMS válaszjelével ($1,59 \times 10^4$ IE/pg), kitűnik, hogy az oximmá alakítás eredményeként jelentősen nagyobb válaszjelű termék keletkezett (12. táblázat).

12. táblázat A khataminok szililezett és oximált-szililezett származékainak retenciórendje, jellemző fragmentumionjai, valamint a termékek válaszjelei; az oximmá alakítás reagens HOA-HCl, a TMS-képzésé MSTFA vagy MSTFA^{TMIS}

Kat-aminok	származék	<i>t_R</i> , perc	SFI, <i>m/z</i>			válaszjel, IE/pg x 10 ⁴ (RSD%)*	
			[M] ⁺	[M-Me] ⁺	további ionok**	MSTFA	MSTFA ^{TMIS}
CAT	2TMS	7,78	295	280	116	3,20 (1,59)	0,97 (6,2)
	3TMS	11,42	367	352	188	-	2,98 (4,76)
NE	2TMS	7,87	295	280	116	4,13 (0,96)	3,28 (0,37)
	3TMS	11,23	367	352	188	-	0,91 (1,49)
CTN	TMS	7,97	221	206	116	1,59 (3,51)	-
	TMS(TMS-oxim) ₁	8,57	308	293	190, 116	1,05 (2,96)	0,51 (3,05)
	TMS(TMS-oxim) ₂	8,81				1,63 (1,69)	0,85 (6,35)
	2TMS	11,07	293	278	263, 188	-	0,95 (3,17)
	2TMS(TMS-oxim) ₁	11,73	380	365	188	-	1,29 (0,33)
	2TMS(TMS-oxim) ₂	12,05				-	0,90 (1,35)

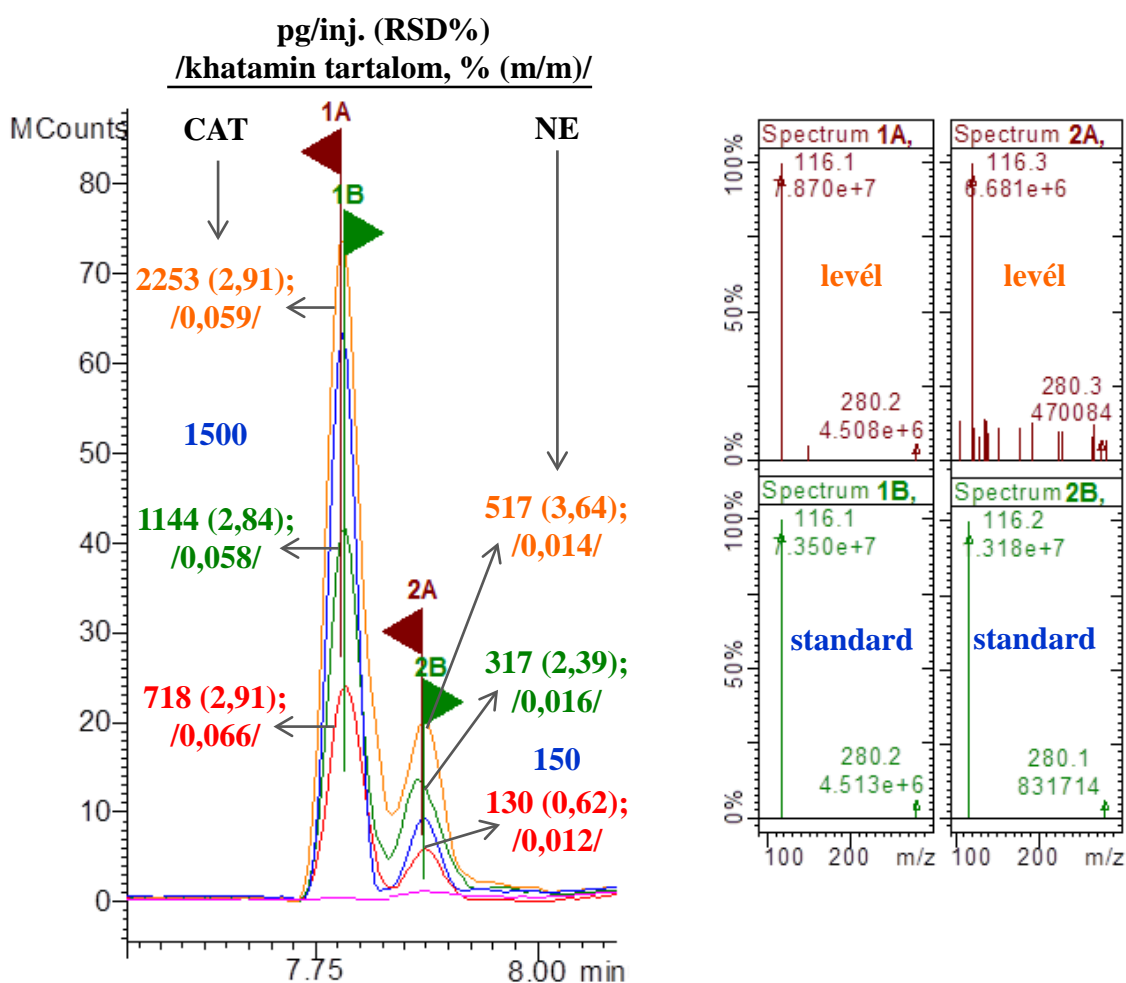
Jelmagyarázat: ld. Rövidítések, 1-11. táblázat, valamint * = a származékképzési és az injektálási párhuzamosok (három-három) válaszjeleinek átlaga és relatív szórása; ** vastagon szedett SFI = a tömegspektrum (21. ábra) legjellemzőbb ionja; késsel nyomtatott SFI = speciális kölcsönhatások következtében képződő ion (30. ábra)

Az új eljárás modelloldatokból meghatározott analitikai teljesítményjellemzői (R², ILQ): a CAT-2TMS, NE-2TMS és CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} termékek ILQ értékei rendre 62,5 pg/inj., 20,0 pg/inj. és 62,5 pg/inj., az R² adatok rendre 0,9991, 0,9990 és 0,9967 (ILQ-3 ng/inj. tartományban) voltak. A származékok stabilitását három napon át vizsgáltam, ez idő alatt nem változtak.

4.4.3 Közelítés a "zöld kémia" irányába: a minta-előkészítés egyszerűsítése

A khataminok kivonására rendkívül összetett, hosszadalmas eljárásokat javasolnak az irodalomban [24-28]. Az ebben a fejezetben bemutatásra kerülő kísérletsorozattal egy egyszerű, költség- és időtakarékos, a "zöld kémia" feltételnek megfelelő eljárás közelítése volt a célom.

A liofilizált *Catha edulis* minta 1-5 mg részleteit közvetlenül, előzetes extrakció nélkül (4.4.5.2. fejezet), az új eljárással (oximálást követő TMS-képzés, 8. táblázat: 22. eljárás) alakítottam származékká (25. ábra).

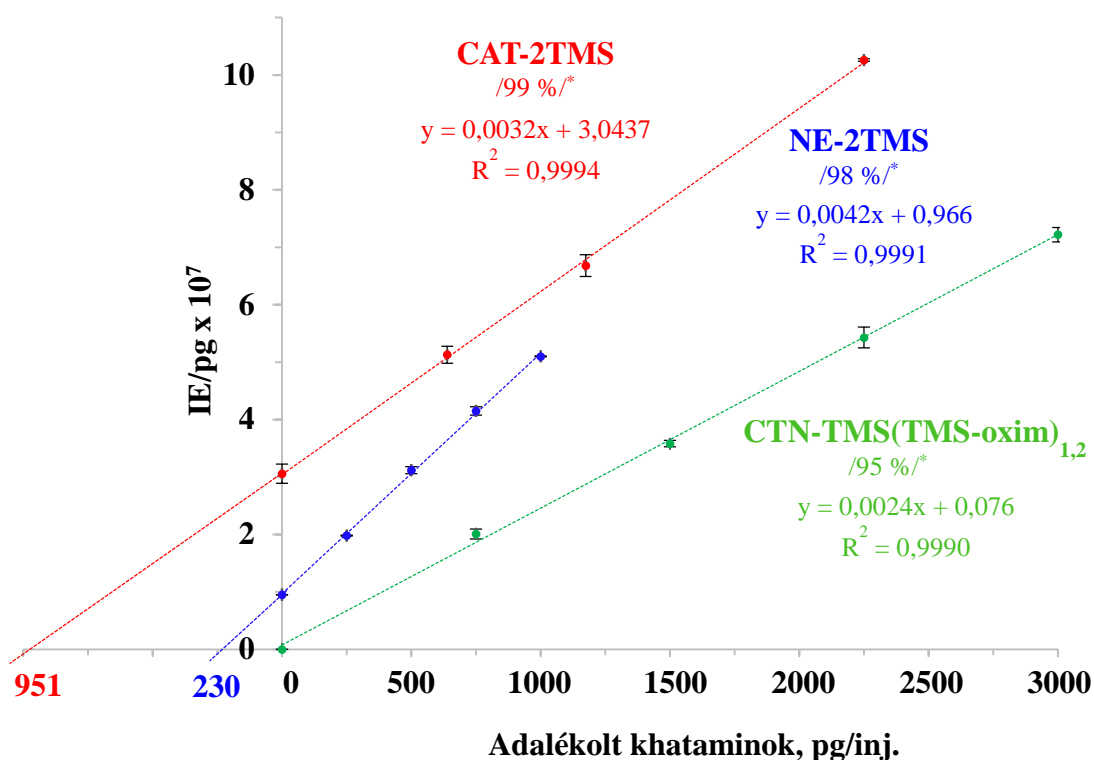


25. ábra A *Catha edulis* levél khataminjainak közvetlen, előzetes extrakció nélküli meghatározása (7. táblázat: 3. hőfokprogram; jelmagyarázat: sárga = 4,58 g; zöld = 2,38 g; piros = 1,30 g liofilizált khat szövet; kék = 150 és 1500 pg/inj. standard; pink = "műveleti üres")

A mérésekből kiderült, hogy

1. a *Catha edulis* minta átlagosan 0,061 % (m/m) CAT (3,05 RSD %) és 0,014 % NE (14 RSD %) khataminokat tartalmaz;
2. a budakalászi Gyógynövénykutató Intézetben nevelt, közel 40 éves khat cserje leveleiben nincs a pszichostimuláns hatásért leginkább felelős CTN, melynek oka feltehetően a kedvezőtlen éghajlati körülmény;
3. a CAT-2TMS és NE-2TMS eltérő mintamennyiségekből nyert arányos válaszjelei a direkt származékkészítési eljárás koncentrációarányosságát igazolták.

A közvetlen származékképzés analitikai alkalmazhatóságának bizonyítása céljából a vegyületek visszanyerését és a származékképzés linearitását is tanulmányoztam. A liofilizált levél 2,00 mg részleteit ismert koncentrációjú CAT-, NE- és CTN-modelloldatok ismert térfogataival adalékoltam (a minták 250-3000 pg hozzáadott khatamint tartalmaztak injektálásonként), s a származékképzést ez után végeztem (4.4.5.2. fejezet). A 26. ábra a mérési eredményeket mutatja.



26. ábra A khataminok visszanyerési- és linearitási tanulmánya
(Jelmagyarázat: * = visszanyerési adatok)

Az eredmények alapján

1. az egyeneseket a vízszintes tengelyre extrapolálva a növény CAT-tartalma 0,057 %-nak, NE-tartalma 0,014 %-nak adódott, amely összhangban van az előző méréssorozat (25. ábra) eredményeivel;
2. a minta nem tartalmazott CTN-t;
3. a célvegyületek visszanyerése 95,7-99,1%, az R^2 0,9990-0,9994 tartományba esett;
4. a pontokra illesztett egyenesek meredekségei megegyeznek a 12. táblázatban szereplő IE/pg válaszjelekkel.

Összegezve: a közvetlen származékká alakítás minden vizsgált analitikai feltételnek megfelel, így alkalmas khat cserje khatamintartalmának kvantitatív meghatározására. A direkt származékképzés *Lophophora williamsii* kaktusz MSC-tartalmának meghatározására is alkalmazható, a vegyület HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárral képzett acilezett származékként. Sajnos a módszer előnyeit – a vizsgálatok további feltételeinek hiányában – nem hasznosíthattuk az 5.3. fejezetben bemutatott eljárásban [113].

4.5 A CTN-típusú dizájnerdrogok meghatározása

A dizájnerdrog-analitika elsőrendű feladata (i) az illegális piacon újonnan megjelenő vegyületek szerkezetének feltárása; (ii) a biológiai minták vagy a lefoglalt bűnjelek összetevőinek azonosítása és mérése. A célvegyületeknek választott CTN-típusú dizájnerdrogok (4-FMC, MCTN, PENT, 4-MEC, 3,4-DMMC, 4-EMC) kvantitatív GC-MS meghatározására vonatkozóan, a 2006-tól 2016 februárjáig megjelent publikációk sorában (2.2. fejezet) csupán négy hivatkozást találtam: egy tanulmányban származékképzés nélkül [32], háromban acilezett termékeikként mérték [46, 48, 59] e kábítószereket. A szakirodalmi előzmények áttekintését kiterjesztettem a CTN-típusú dizájnerdrogok kvalitatív azonosítását célzó közleményekkel [114-124]: a vegyületeket származékképzés nélkül [114-119], acilezett [120-122] vagy trimetilszililezett [123, 124] termékeikként analizálták. Az irodalomkutatás eredményeként elmondható, hogy (i) a CTN-típusú dizájnerdrogok esetén a trimetilszililezést kvantitatív célra nem, csupán minőségi analízist megelőzően alkalmazták; (ii) a biológiai minták időigényes extrakciós

eljárásokkal kerültek feldolgozásra. Célul tűztem ki – kihasználva a CTN-típusú molekulák ketojellegét – egy szelektív, érzékeny és gyors minta-előkészítési eljárás kidolgozását a választott dizájnerdrogok meghatározására.

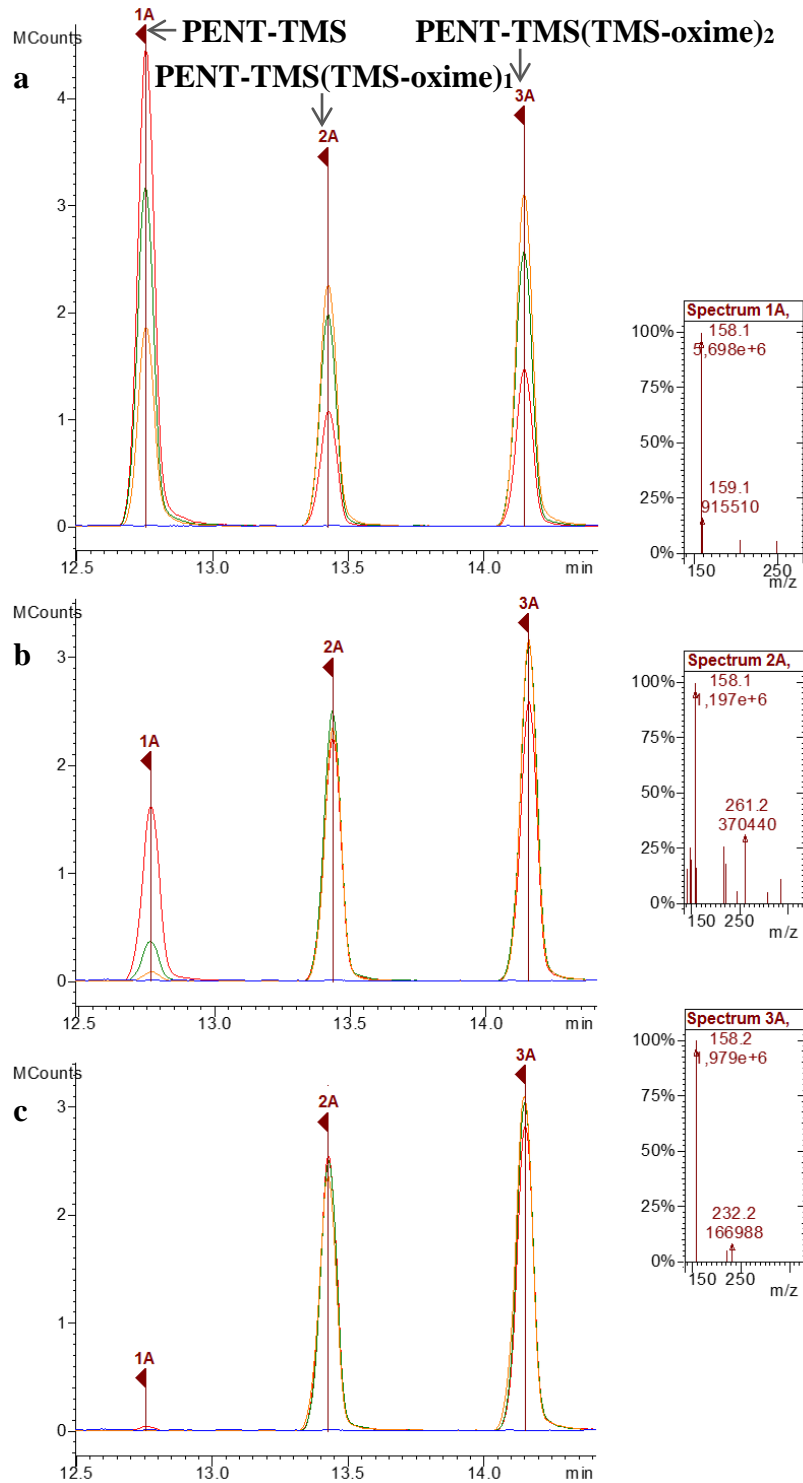
4.5.1 A CTN-típusú dizájnerdrogok származékképzési tanulmánya

A CTN példáján bizonyítottam (5.4. fejezet), hogy az előzetes oximmá alakítás elengedhetetlen feltétele a stabil, GC-MS elemzésre alkalmas termékek létrejöttének [125]. Minthogy a CTN-típusú dizájnerdrogok karbonil-csoportot tartalmazó vegyületek, az 5.4. fejezetben részletesen ismertetett, kétlépésbeni származékképző eljárást a 4-FMC, MCTN, PENT, 4-MEC, 3,4-DMMC és 4-EMC mérésére is kiterjesztettem.

A CTN meghatározására optimális eljárást alkalmazva (8. táblázat: 22. eljárás) a célvegyületek TMS(TMS-oxim)_{1,2} termékeit detektáltam, az *E/Z*- izomériának megfelelően két csúcsban (1,2). Az alkalmazott reakciókörülmény (oximálás: 70 °C, 30 perc, szililezés: 70 °C, 30 perc) a vizsgált vegyületek részleges oximmá alakításához vezetett: a kromatogramokon azonosított első csúcsok a vegyületek TMS-származékainak felelnek meg. Következésképp, az oximálási reakció hőfoka (70 °C) és ideje (30 perc) nem elégséges a vegyületek sztöchiometrikus származékképzéséhez. Az oximmá alakítás feltételeinek optimalizálását a PENT példáján részletezem (27.a-c ábra). Az oximálást 70 (27.a ábra), 85 (27.b ábra) és 100 °C (27.c ábra) hőfokon, 30 (27. ábra piros), 60 (27. ábra zöld) és 90 percig (27. ábra sárga) vizsgáltam. Legalkalmasabbnak a 100 °C hőfokon, 60 percig végzett reakciót találtam (27.c ábra: zöld kromatogram), hiszen ilyen feltételek mellett kizárólag a TMS(TMS-oxim)_{1,2} termékek keletkeznek. (Az oximmá alakítás optimalizálása során a TMS-képzés hőfoka 70 °C, reakcióideje 30 perc volt.)

Az oximálás alkalmas feltételeinek meghatározása után a trimetilszililezési reakció körülményeit optimalizáltam: a reakciót 70, 80 és 90 °C hőfokon, 30, 60, 90 és 120 percig végeztem. A 70 °C hőfokon, 30 percig tartó szililezést elégségesnek találtam a reakció kvantitatív lejátszódásához. A származékok stabilitását három napon keresztül vizsgáltuk, mely idő alatt stabilnak bizonyultak.

Az optimális feltételekkel képzett 4-FMC-TMS(TMS-oxim)_{1,2}, MCAT-TMS(TMS-oxim)_{1,2}, PENT-TMS(TMS-oxim)_{1,2}, 4-MEC-TMS(TMS-oxim)_{1,2}, 3,4-DMMC-TMS--(TMS-oxim)_{1,2} és 4-EMC-TMS(TMS-oxim)_{1,2} termékek retenciós rendjét és



27. ábra A PENT oximmá alakítása a reakció hőfokának és idejének függvényében (7. táblázat: 2. hőfokprogram; jelmagyarázat: a = az oximmá alakítás hőfoka 70 °C; b = 85 °C; c = 100 °C; piros = az oximálási reakció ideje 30 perc; zöld = 60 perc; sárga = 90 perc; kék = ”műveleti üres”; a szililezés minden esetben 70 °C hőfokon, 30 percig történt)

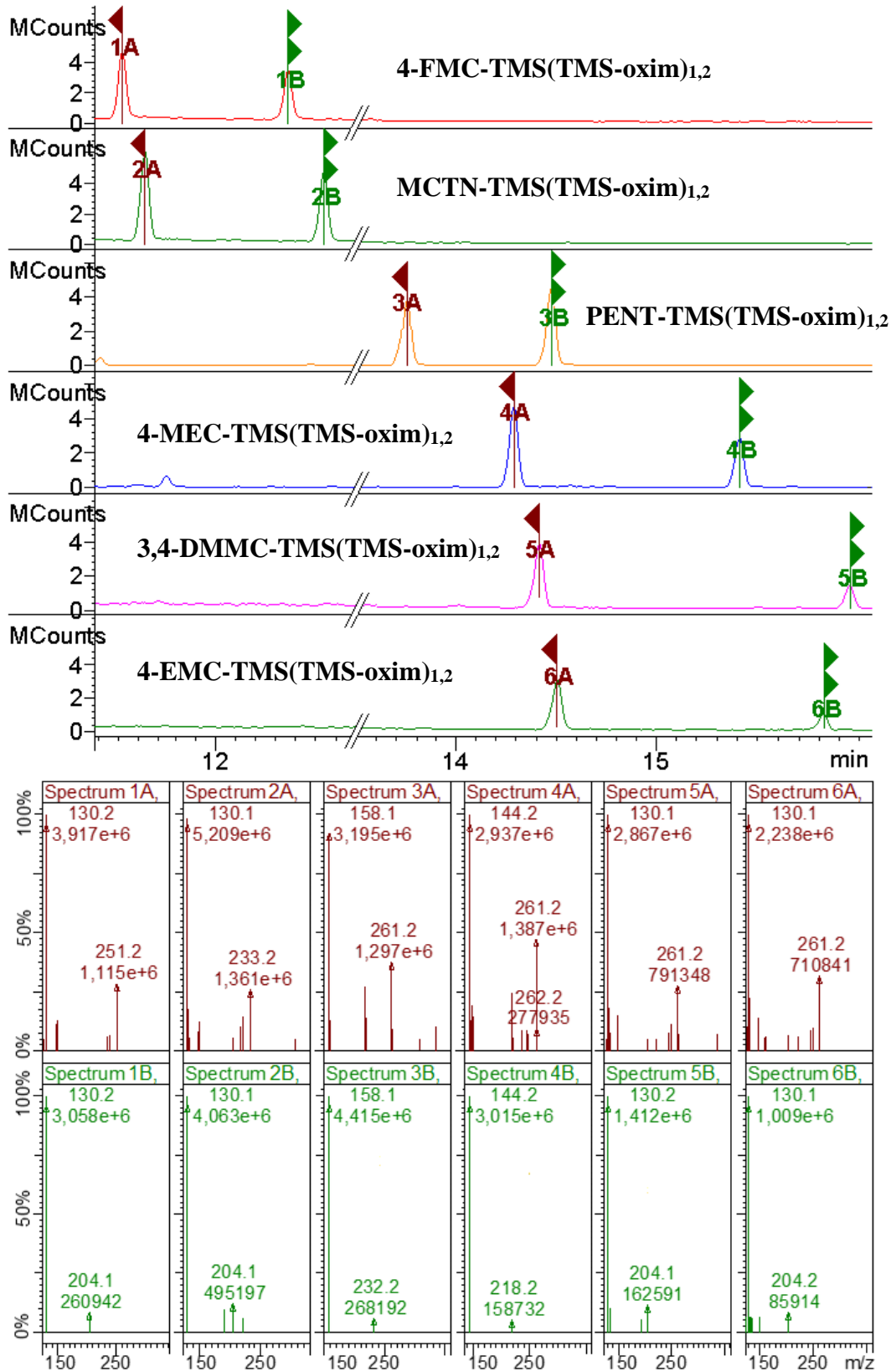
13. táblázat A CTN-típusú dizájnerdrogok TMS(TMS-oxim)_{1,2} származékainak retenciós rendje, jellemző fragmentumionjai, a termékek válaszjelei, valamint az új eljárás vizeletmátrixban meghatározott analitikai teljesítményjellemzői

dizájner- drogok	TMS(TMS- oxim) _{1,2} ^{**}	t _R , perc	SFI, m/z		válaszjel, IE/pg x 10 ⁴ (RSD%)*	Analitikai jellemzők		
			[M] ⁺	további ionok [#]		LOQ, ng/mL	R ² &	vissza- nyerés, %
4-FMC	1 ^{1A}	11,52	340	325, 251, 204, 130	1,46 (3,60)	24	0,9994	99
	2 ^{1B}	12,34		204, 130	1,15(1,49)			
MCTN	1 ^{2A}	11,63	322	307, 233, 204, 130	1,92 (4,90)	24	0,9984	98
	2 ^{2B}	12,52		204, 130	1,54 (1,43)			
PENT	1 ^{3A}	13,74	350	335, 261, 158	1,27 (2,20)	15	0,9976	97
	2 ^{3B}	14,46		232, 158	1,61 (2,75)			
4-MEC	1 ^{4A}	14,27	350	261, 218, 144	1,80 (4,01)	15	0,9989	99
	2 ^{4B}	16,40		218, 144	0,96 (3,36)			
3,4- DMMC	1 ^{5A}	14,33	350	335, 261, 249, 130	1,27 (3,60)	24	0,9985	97
	2 ^{5B}	17,61		204, 130	0,46 (2,85)			
4-EMC	1 ^{6A}	14,84	350	261, 249, 130	1,14 (3,64)	15	0,9998	99
	2 ^{6B}	17,40		204, 130	0,40 (5,44)			

Jelmagyarázat: ld. Rövidítések, 1-12. táblázat, valamint * = a származékképzési és az injektálási párhuzamosok (három-három) válaszjeleinek átlaga és relatív szórása; ** = az 1A-6B jelölések megfelelnek a 27. *ábra* 1A-6B jelöléseinek; # vastagon szedett SFI = a tömegspektrum (27. *ábra*) legjellemzőbb ionja; kéken nyomtatott SFI = speciális, intramolekuláris kölcsönhatások során keletkező [(abundáns ion)+74]⁺ fragmensek (28. *ábra*), melyek keletkezését a 30. *ábra* mutatja; & = az LOQ - 138 µg/mL koncentrációtartományban meghatározott regressziós egyenes R² értéke

a származékok válaszjeleit (IE/pg) a 13. táblázat, tömegspektrumait a 28. *ábra* mutatja.

Hogy az oximmá alakítás szükségszerűségét igazoljam, a vegyületek előzetes oximálása nélkül is elvégeztem a trimetilszililezést (8. táblázat: 15. eljárás), amelynek során kárászéletű TMS-származékok keletkezését tapasztaltam: a származékképzési reakcióban késedelem nélkül megjelentek a metabolitok (29. *ábra*, 14. táblázat). A bomlás során a TMS-termékek fragmentációjával keletkező [M-Me]⁺ ionok és a C₁-C₂ kötés hasadása következtében jelenlévő (30. *ábra*), a tömegspektrumban legjellemzőbb immónium ionok (14. táblázat vastagon nyomtatott értékei) m/z 44 tömegegységgel bővülnek (14. táblázat zöld és piros adatai), amely feltehetően a reagens feleslegéből



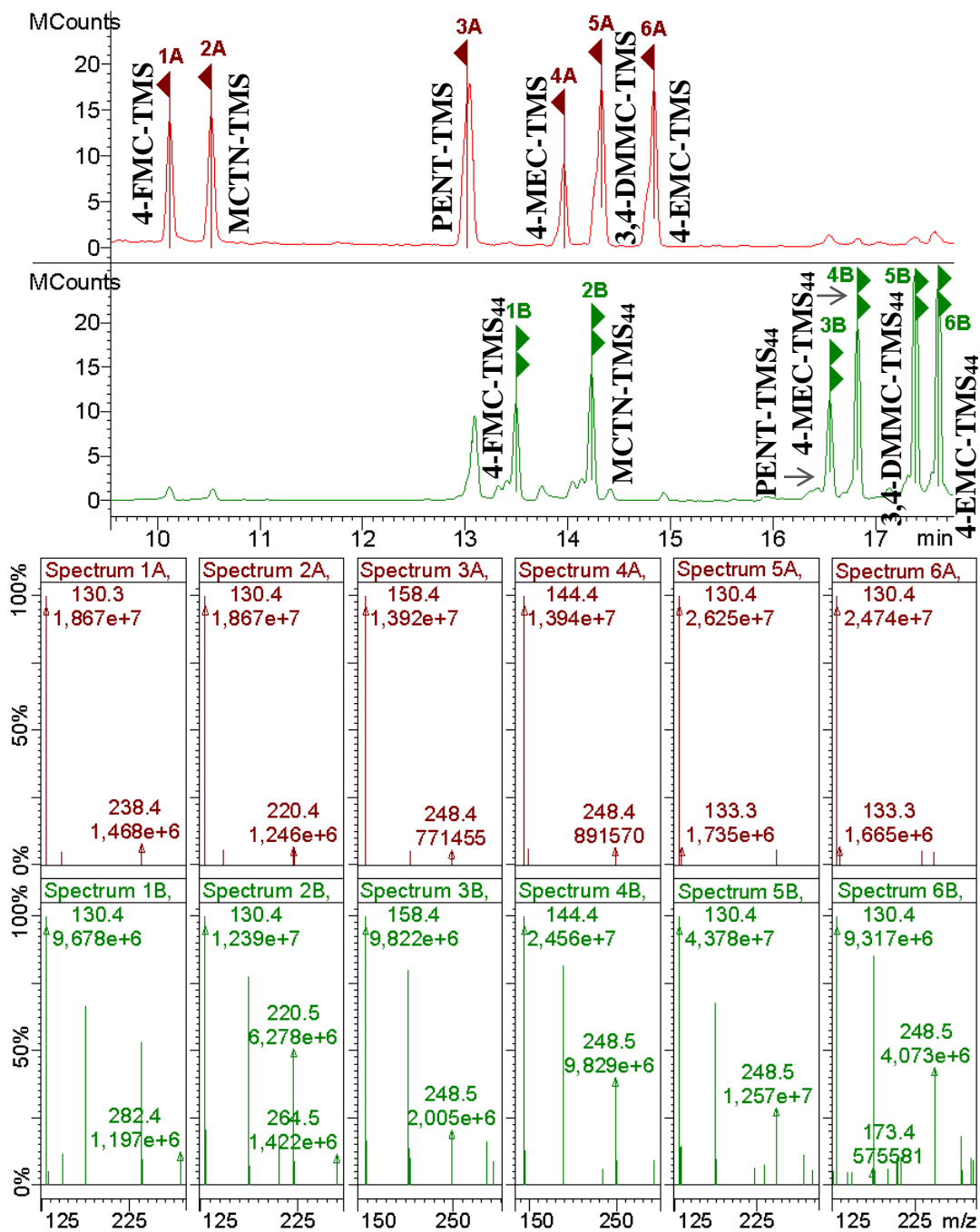
28. ábra A CTN-típusú dizájnertitkok TMS(TMS-oxim)_{1,2} származékainak retenciós rendje és spektruma (7. táblázat: 2. hőfokprogram)

származik. A bomlástermékek (TMS₄₄) aránya állás során nő, miközben az eredeti származékoké (TMS) csökken. A TMS-termékeket katalizátor (TMCS, TMIS) hozzáadásával sem tudtam stabilizálni, s a bomlási folyamat BSTFA alkalmazásával is lejátszódott. A szililezési reakció kvantitatív analitikai célra nem alkalmas.

14. táblázat A CTN-típusú dizájnerdrogok TMS-származékainak és TMS₄₄-metabolitjainak retenciós rendje és jellemző fragmentumionjai, valamint a TMS/TMS₄₄ termékek válaszelejeinek aránya

dizájner-drogok	származék*	tr, perc	SFI, m/z		TMS/TMS ₄₄ válaszeleje arány [#]	
			[M] [†]	további ionok ^{**}	késedelem nélkül	3 nappal később
4-FMC	TMS ^{1A}	10,12	253	238, 130	96/4	11/89
	TMS ₄₄ ^{1B}	13,44		282, 238, 174, 130		
MCTN	TMS ^{2A}	10,53	235	220, 130	98/2	7/93
	TMS ₄₄ ^{2B}	14,16		264, 220, 174, 130		
PENT	TMS ^{3A}	13,02	263	248, 158	97/3	48/52
	TMS ₄₄ ^{3B}	16,57		292, 248, 202, 158		
4-MEC	TMS ^{4A}	13,96	263	248, 144	82/18	3/97
	TMS ₄₄ ^{4B}	16,83		292, 248, 188, 144		
3,4-DMMC	TMS ^{5A}	14,33	263	248, 130	92/8	5/95
	TMS ₄₄ ^{5B}	17,40		292, 248, 174, 130		
4-EMC	TMS ^{6A}	14,84	263	248, 130	96/4	4/96
	TMS ₄₄ ^{6B}	17,61		292, 248, 174, 130		

Jelmagyarázat: ld. Rövidítések, 1-13. táblázat, valamint * = az 1A-6B jelölések megfelelnek a 29. ábra 1A-6B jelöléseinek; [#] vastagon szedett SFI = a tömegspektrum (29. ábra) legjellemzőbb ionja; zölden nyomtatott SFI = [M-Me+44][†]; pirosan nyomtatott SFI = [(abundáns ion)+44][†]; [#] = TMS/TMS₄₄ válaszeleje arányok a származékképzés után azonnal és három nappal később

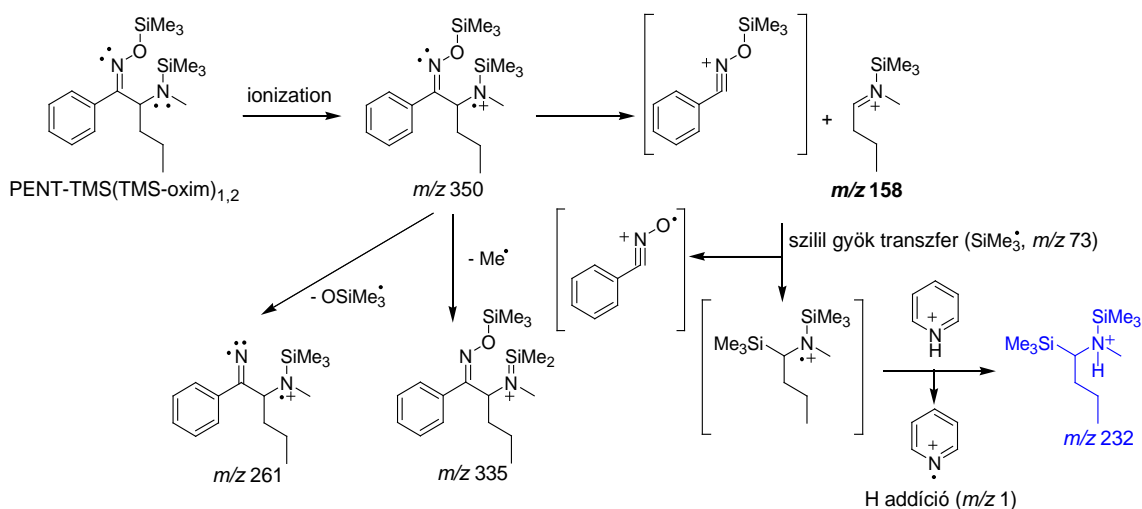


29. ábra A CTN-típusú dizájnertitkok TMS- származékainak és TMS₄₄- bomlástermékeinek retenciós rendje és spektruma (7. táblázat: 2. hőfokprogram)

4.5.2 A TMS-oxim származékok tömegspektrumainak elemzése

A CTN-típusú vegyületek TMS(TMS-oxim)-származékainak tömegspektrumaiban (28. ábra) jelenlévő [M-Me]⁺ és [M-OSiMe₃]⁺ ionok a TMS-oxim termékekre általánosan jellemző fragmentációs utak eredménye. A 12. és 13. táblázatokban kék színnel

nyomatott fragmentumionok keletkezése feltehetően intra- és intermolekuláris kölcsönhatások következménye. A ionok (i) a molekulák legjellemzőbb fragmenseinél m/z 74 tömegegységgel nagyobbak: [(abundáns ion)+74]⁺; (ii) keletkezése független a molekulák aromás részétől; (iii) a jellemző tömegek csak az előzetesen oximmá alakított termékek sajátja: a CAT és NE esetében nem keletkeznek. A fragmentáció útját, mely feltételezéseink szerint szilil gyök transzferből és H addícióból áll, a PENT-TMS(TMS-oxim)_{1,2} példája mutatja (30. ábra).



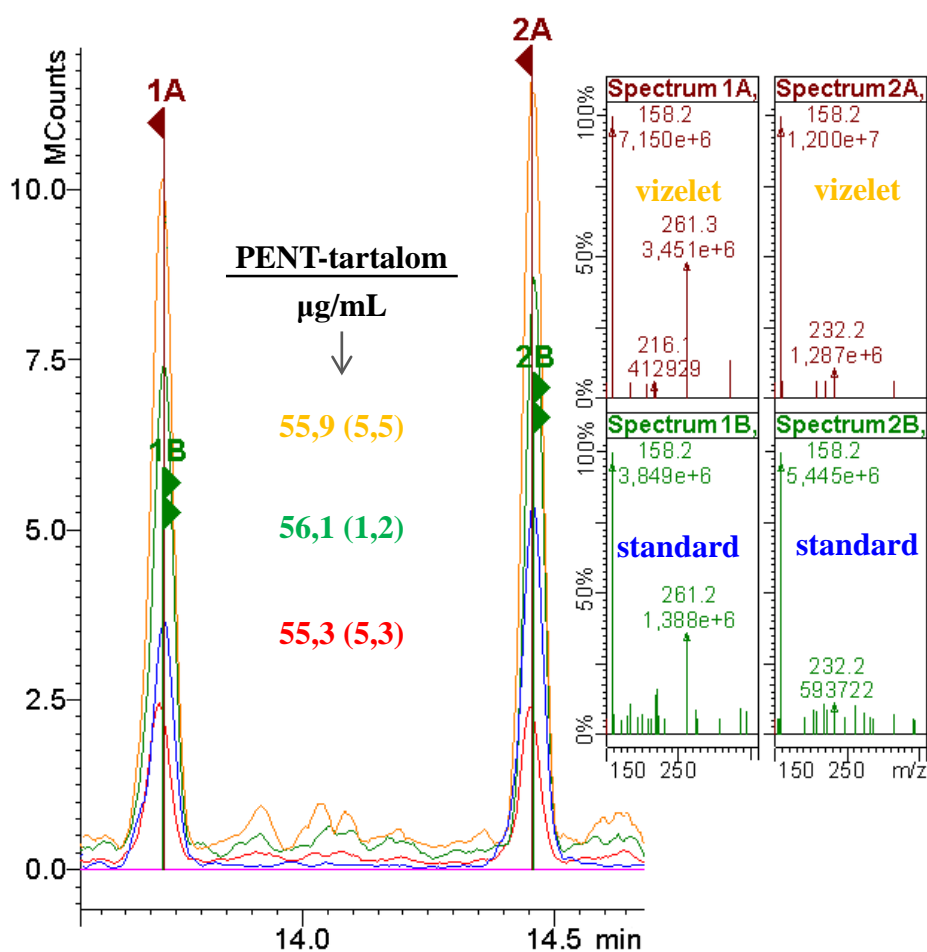
30. ábra A CTN-típusú dizájnertitok TMS(TMS-oxim) származékaira jellemző fragmentációs utak a PENT-TMS(TMS-oxim)_{1,2} példáján

4.5.3 A CTN-típusú dizájnertitok koncentrációjának meghatározása vizeletmátrixban, a minták előzetes dúsítása nélkül

A 3-6. táblázatokból kitűnik, hogy a biológiai mátrixok összetevőinek meghatározásakor a mintákat, az esetek döntő többségében, rendkívül időigényes eljárásoknak vetik alá. Minél hosszadalmasabb, több lépéses dúsítást alkalmaznak, annál nagyobb a lehetőség a célvegyületek elvesztésére, így az analízis megbízhatóságának és érzékenységének csökkentésére. A [38] publikációban kémiai ionizációval segített közvetlen származékkészítés útján határozták meg a vizelet AM-, MA-, MDA-, MDMA- és MDEA-tartalmát. E közlemény, s korábbi, a *Catha edulis* és *Lophophora williamsii* kábítószer-tartalmának direkt meghatározásával kapcsolatos eredményeim alapján

kísérletet tettem a vizeletmintákban található dizájnertdrogok koncentrációjának meghatározására a minta előzetes dúsítása nélkül.

Drogfogyasztással gyanúsítottak centrifugált vizeletmintáinak 10-40 μL részleteit 10-10 μL 10 % (m/m) HCl oldat hozzáadása után szárazra pároltam (4.4.4.2. fejezet), s az így kapott maradékokat, az új eljárással – oximálást követő TMS-képzés, 8. táblázat: 22. eljárás – közvetlenül alakítottam származékká (31. ábra: PENT-tartalmú vizelet).



31. ábra A vizelet PENT-tartalmának közvetlen, előzetes extrakció nélküli meghatározása (7. táblázat: 2. hőfokprogram; jelmagyarázat: piros = 40 μL ; zöld = 30 μL ; sárga = 10 μL vizelet; kék = 60 $\mu\text{g/mL}$ koncentrációban standard PENT-t tartalmazó vizelet; pink = ”műveleti üres”)

A mérésekből kiderült, hogy

1. a vizeletminta átlagosan 56,8 µg/mL PENT (3,8 RSD %) dizájnerdrogot tartalmaz;
2. a PENT-TMS(TMS-oxim)_{1,2} eltérő mintamennyiségekből nyert arányos válaszjelei a direkt származékkészítési eljárás koncentrációarányosságát igazolják.

Mint ahogy nincs korábbi, arra vonatkozó tapasztalat, milyen arányban nyerhetők vissza a vegyületek a vizeletben található CTN-típusú dizájnerdrogok direkt TMS(TMS-oxim)-származékká alakítása során, ezért részletes vizsgálatokat végeztem a paraméterek meghatározására. A kábítószeret nem tartalmazó vizelet 20-20 µL térfogatait standard 4-FMC-, MCTN-, 4-MEC-, 4-EMC-, PENT- és 3,4-DMMC-modelloldatok ismert mennyiségeivel adalékoltam (a minták minden dizájnerdrogot 200-2300 pg/inj. koncentrációban tartalmaztak), majd az elegyeket, 10-10 µL 10% (m/m) jelenlétében szárazra pároltam, s a származékképzést ez után végeztem (4.4.4.2. fejezet). A célvegyületek visszanyerése 97-99 %, az LOQ értékek 15-24 µg/mL, az R² adatok 0,9976-0,9998 (LOQ-138 µg/mL tartományban) között változtak (14. táblázat).

4.5.4 Az eljárás értékelése

A CTN-típusú dizájnerdrogok származékképzésére elsőként alkalmazott TMS-oximképzés előnye, hogy jellemző fragmentációs utakat eredményez, amely alkalmas lehet más, CTN-típusú dizájnerdrog szerkezetének feltárására: az *E*-/*Z*- oximcsúcsok a karbonil-csoport jelenlétére, a speciális mechanizmussal keletkező fragmentumionok pedig a CTN típusra engednek következtetni. A vizelet direkt, előzetes extrakció nélküli vizsgálata idő- és költséghatékonyságával, valamint a felhasznált oldószerek csekély mennyiségével jól közelíti a "zöld kémia" feltételeit.

5. Megbeszélés

A kábítószeres terjedése, s a mind újabb dizájnerdrogok megjelenése folyamatos kihívást jelent a kutatók számára. A nagyszámú minta elemzéséhez és az új szerek szerkezetfelderítéséhez érzékeny, szelektív, reprodukálható és gyors eljárások szükségesek, melynek egyik lehetősége a GC-MS.

Célkitűzéseimnek megfelelően, új eljárásokat javasoltam a PFAA-szerkezetű vegyületek – kitüntetett figyelemmel a kábítószeres (AM, MDA, MSC, CTN, CAT) – és a CTN-típusú dizájnerdrogok (4-FMC, MCTN, PENT, 4-MEC, 3,4-DMMC, 4-EMC) GC-MS meghatározására. A kábítószer-analitikában sokszor sok, a legkülönbözőbb funkció csoportokkal rendelkező vegyületek egyidejű meghatározása a cél. Az irodalmi előzmények, s a kutatócsoport korábbi tapasztalatai alapján nem kétséges, hogy ezekben az esetekben a szililezés az egyedülállóan alkalmas származékképző eljárás. Éppen ezért, az új módszerek kidolgozásának kezdetén a kutatócsoportunk által ez idáig több mint 100 vegyület TMS-származékká alakítására optimálisan alkalmazott HMDS+TFE reagenspárost terveztem a PFAA-szerkezetű vegyületek származékká alakítására. Nem várt módon, a reakcióban TMS-származékok helyett TFA-termékek keletkeztek. Az új acilezési eljárás részleteit bemutattam.

Elsőként javasoltam a PFAA-típusú vegyületek meghatározását azok 2TMS-származékaiként, a CTN és CTN-típusú vegyületek analízisét azok TMS(TMS-oxim)_{1,2}-termékeiként.

A khataminok GC-MS elemzésére javasolt irodalmi eljárások kiegészítéseként megvalósítottam a CTN, CAT és NE hatékony gázkromatográfiás elválasztását, s a fragmentációs utak részletes ismeretében meghatároztam a vegyületek azonosítására alkalmas ionokat.

A szakirodalomban javasolt hosszadalmas, legtöbbször rendkívül bonyolult minta-előkészítési eljárások helyett az ún. "zöld kémia" feltételeit közelítő módszereket mutattam be növényi és biológiai mintákban található fenilalkilaminok mérésére. Meghatároztam az új eljárások analitikai teljesítményjellemzőit, s összehasonlítottam azokat egymással, valamint a szakirodalomban javasolt módszerekkel. A munka gyakorlati jelentőségét *Lophophora williamsii*, *Catha edulis* és vizeletminták kábítószer tartalmának meghatározásával bizonyítottam.

6. Következtetések

Felismertem a HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárokkal képzett, alapvetően új, a PFAA-típusú vegyületekre szelektív acilező reakció feltételeit, optimális körülményeit és mechanizmusát. Megállapítottam, hogy az új eljárással kapott válaszjelek értéke (i) független az alkalmazott perfluorokarbonsavtól; (ii) egységesen nagy, amely a molekulaion ($[M]^+$) és/vagy az – önkémiai ionizáció révén keletkező – $[M+147]^+$ ion jelenlétének köszönhető; (iii) jelentősen nagyobb, mint TFAA-t alkalmazva, melynek oka egyrészt az $[M+147]^+$ ionból eredő hozzájárulás hiánya, másrészt a reagensfelesleg eltávolításából származó anyagveszteség, amely TFAA használata során legkevesebb 46 % (2-PEA) volt.

Javaslatot tettem a PFAA-szerkezetű vegyületek meghatározására azok 2TMS-származékaiként. Az új eljárás előnyeit a 2TMS-termékek és a HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárosokkal képzett acilezett származékok válaszjeleinek összehasonlítása útján elemeztem: a PFAA-2TMS válaszjelei átlagosan ~1,7-szer (kiemelve a három kábítószeramint AM: 1,9-szer, MDA: 2,7-szer, MSC: 1,6-szor) nagyobbak, mint a HMDS+perfluorokarbonsav reagenspárokkal képzett termékeké. Az AM és MDA vegyületek 2TMS-származékainak válaszjeleit a megfelelő TMS-termékekével – melyeket az irodalomban javasolt eljárással, MSTFA-val oldószermentes közegben képeztem – is ütköztettem: az AM-2TMS válaszjele 2,5-szer, az MDA-2TMS-é 3,5-szer nagyobb, mint a megfelelő TMS-termékeké. A 2TMS-származékképzés acilezéshez viszonyított előnyeit vizeletminta AM- és *Lophophora williamsii* kaktusz minta MSC-tartalmának meghatározása útján mutattam be.

Az irodalomi előzmények hiánypótlásaként új eljárást javasoltam a khataminok meghatározására. Elsőként írtam le a CTN TMS(TMS-oxim)_{1,2}-származékká alakításának lehetőségét, s optimális feltételeit. Az új módszer legfőbb előnye (i) a gázkromatográfiás elválasztás hatékonyságának és (ii) a meghatározás érzékenységének javítása: a CTN-TMS(TMS-oxim)_{1,2} csúcsok válaszjeleinek összegét összehasonlítva a CTN-TMS válaszjelével kitűnik, hogy az oximmá alakítás eredményeként jelentősen nagyobb válaszjelű termék keletkezett.

A CTN mintájára bemutattam a CTN-típusú dizájnertiterek TMS(TMS-oxim)_{1,2}-származékká alakításának lehetőségét. Az új eljárás trimetilszililezéshez képest tapasztalt

legfőbb előnye a TMS(TMS-oxim)_{1,2} termékek stabilitása, a trimetilszililezés (előzetes oximálás nélkül) ugyanis károséletű termékek keletkezéséhez vezet.

A szakirodalomban javasolt, növényi és biológiai minták szerves összetevőinek dúsítását célzó hosszadalmas, sokszor rendkívül bonyolult eljárásokat egyszerűsítettem, *Catha edulis* khatamin-, *Lophophora williamsii* MSC- és vizelet PENT-tartalmát közvetlenül, a vegyületek előzetes extrakciója nélkül határoztam meg.

7. Összefoglalás

Új minta-előkészítési eljárásokat javasoltam növényi és biológiai mintákban található, PFAA-szerkezetű aminok – kitüntetett figyelemmel a kábítószer (AM, MDA, MSC, CTN, CAT) – és a CTN-típusú dizájnertiterek (4-FMC, MCTN, PENT, 4-MEC, 3,4-DMMC, 4-EMC) elemzésére. Ennek részeként

1. új származékképzési eljárásokat mutattam be:
 - (i) felismertem, hogy a közismert szililezőszer HMDS+TFA acilezőszerként is hatékony: a kölcsönhatás a PFAA-típusú vegyületek homológ sorának szelektív acilezésére alkalmas; a klasszikus acilezőszerekhez viszonyítva jelentősen nagyobb válaszjeleket eredményez;
 - (ii) elsőként írtam le a PFAA-szerkezetű vegyületek szelektív 2TMS-származékká alakításának mennyiségi elemzésre alkalmas feltételeit; a módszer a TMS-képzéshez és az új acilezéshez viszonyítva is számottevően nagyobb érzékenységgű meghatározást tesz lehetővé;
 - (iii) javaslatot tettem a CTN és a CTN-típusú dizájnertiterek szililezést megelőző oximmá alakítására; a kétlépcsős származékképzés hatékony gázkromatográfiás elválasztást és stabil termékek keletkezését eredményezi;
2. valamennyi új származékképzési eljáráshoz részletes fragmentum-analitikai tanulmányt készítettem;
3. a szakirodalomból ismert hosszadalmas, sokszor rendkívül bonyolult dúsítási eljárások helyett, a növényi és biológiai mátrixok kábítószer tartalmának direkt meghatározását javasoltam, amely az összetevők előzetes kivonás nélküli származékképzését jelenti;
4. az új eljárások (dúsítás és származékképzés) gyakorlati jelentőségét növényi és biológiai minták (*Lophophora williamsii* kaktusz, *Catha edulis* cserje, vizelet) kábítószer tartalmának meghatározásával bizonyítottam.

8. Summary

New sample preparation techniques were developed for the quantitative determination of PPAAs – with special attention to illicit constituents (AM, MDA, MSC, CTN, CAT) – and CTN-type designer drugs (4-FMC, MCTN, PENT, 4-MEC, 3,4-DMMC, 4-EMC) in plants and other biological matrices. In the frame of it

1. new derivatization approaches were presented:
 - (i) results suggest that the well-known silylating reagent HMDS+TFA is also an efficient acylating agent: the reaction can be applied for selective acylation of PPAAs' homologues series; this process provides significant higher response values than the counterpart products, derivatized with traditional acylating reagents;
 - (ii) as novelty to the field, the selective quantitative determination of PPAAs via 2TMS-derivatives was also described; the method enables considerably better sensitivity than the monotrimethylsilylation or acylation;
 - (iii) the oximation of the CTN and the CTN-type designer drugs followed by their trimethylsilylation was noted at the first time; the two-steps derivatization resulted in effective GC separation and stable derivatives;
2. the mass fragmentation patterns were described in detail for all derivatization principles;
3. a novel sample preparation technique was recommended for determination of drugs in plants and other biological matrices which means the direct derivatization of the compounds of interest without any preliminary extraction compared to the time consuming procedures published in the literature;
4. the practical utility of developed methods (extraction and derivatization) was demonstrated by the quantitative determination of drugs in plants and other biological matrices (*Lophophora williamsii* and *Catha edulis* tissues, urine samples).

9. Irodalomjegyzék

- [1] World drug report. United Nations Office on Drugs and Crime, New York, 2015: 1.
- [2] Éves jelentések (2006-2015) a magyarországi kábítószerhelyzetről az EMCDDA számára. Nemzeti Drog Fókuszpont, www.drogfokuszpont.hu (Letöltve: 2016. február 18.).
- [3] González-Mariño I, Benito Quintana J, Rodríguez I, Cela R. (2010) Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction, derivatisation and gas chromatography–ion trap–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1217: 1748-1760.
- [4] Sparkman OD, Penton ZE, Kitson FG. Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide. Academic Press, Oxford, 2011: 3.
- [5] Gyires K, Fürst Zs. Farmakológia. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2007: 146.
- [6] Young R, Glennon RA. (1996) A three-lever operant procedure differentiates the stimulus effects of R(-)-MDA from S(+)-MDA. *J Pharmacol Exp Ther*, 276: 594-601.
- [7] Edeleano L. (1887) Ueber einige derivate der phenylmethacrylsäure und der phenylisobuttersäure. *Ber Dtsch Chem Ges*, 20: 616-622.
- [8] Ujváry I. (2000) Az amfetamin-típusú drogok kultúrtörténete, kémiája, farmakológiája és toxikológiája. *Psychiatr Hung*, 15: 641-687.
- [9] Leis HJ, Windischhofer W. (2012) Quantitative determination of amphetamine in plasma using negative ion chemical ionization GC-MS of o-(pentafluorobenzyl-oxycarbonyl)-2,3,4,5-tetrafluorobenzoyl derivatives. *J Sep Sci*, 35: 3326-3331.
- [10] Dring LG, Smith RL, Williams RT. (1970) The metabolic fate of amphetamine in man and other species. *Biochem J*, 116: 425-435.
- [11] Schepers RJF, Oyler JM, Joseph Jr RE, Cone EJ, Moolchan ET, Huestis MA. (2003) Methamphetamine and amphetamine pharmacokinetics in oral fluid and plasma after controlled oral methamphetamine administration to human volunteers. *Clin Chem*, 49: 121-132.
- [12] Fujita Y, Takahashi K, Takei M, Niitsu H, Aoki Y, Onodera M, Fujino Y, Inoue Y, Endo S. (2008) Detection of levorotatory methamphetamine and levorotatory amphetamine in urine after ingestion of an overdose of selegiline. *Yakugaku Zasshi*, 128: 1507-1512.

- [13] Wang SM, Wang TC, Giang YS. (2005) Simultaneous determination of amphetamine and methamphetamine enantiomers in urine by simultaneous liquid–liquid extraction and diastereomeric derivatization followed by gas chromatographic–isotope dilution mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 816: 131-143.
- [14] Stafford P. *Psychedelics Encyclopedia*. Ronin Publishing, Inc., Berkeley, 1992: 102-155.
- [15] Gahlinger PM. *Illegal dugs: a complete guide to their history, chemistry, use and abuse*. Plume, New York, 2004: 393-412.
- [16] El-Seedi HR, De Smet PAGM, Back O, Possnert G, Bruhn JG. (2005) Prehistoric peyote use: Alkaloid analysis and radiocarbon dating of archaeological specimens of *Lophophora* from Texas. *J Ethnopharmacol*, 101: 238-242.
- [17] Gambelunghe C, Marsili R, Aroni K, Bacci M, Rossi R. (2013) GC-MS and GC-MS/MS in PCI mode determination of mescaline in peyote tea and in biological matrices. *J Forensic Sci*, 58: 270-278.
- [18] Ogunbodede O, McCombs D, Trout K, Daley P, Terry M. (2010) New mescaline concentrations from 14 taxa/cultivars of *Echinopsis* spp. (Cactaceae) (“San Pedro”) and their relevance to shamanic practice. *J Ethnopharmacol*, 131: 356–362.
- [19] Peters FT, Samyn N, Lamers CTJ, Riedel WJ, Kraemer T, de Boeck G, Maurer HH. (2005) Drug testing in blood: validated negative-ion chemical ionization gas chromatographic–mass spectrometric assay for enantioselective measurement of the designer drugs MDEA, MDMA, and MDA and its application to samples from a controlled study with MDMA. *Clin Chem*, 51: 1811-1822.
- [20] Clement BA, Goff CM, Forbes TDA. (1998) Toxic amines and alkaloids from *Acacia rigidula*. *Phytochemistry*, 49: 1377-1380.
- [21] Valente MJ, de Pinho PG, Bastos ML, Carvalho F, Carvalho M. (2014) Khat and synthetic cathinones: a review. *Arch Toxicol*, 88: 15-45.
- [22] Wolfes O. (1930) Über das vorkommen von d-nor-iso-ephedrin in *Catha edulis*. *Arch Pharm*, 268: 81-83.
- [23] Szendrei K. (1980) The chemistry of Chat. *Bull Narcotics*, 32: 5-34.
- [24] Lee MM. (1995) The identification of cathinone in khat (*Catha edulis*): a time study. *J Forensic Sci*, 40: 116-121.

- [25] Ripani L, Schiavone S, Garofano L. (1996) GC/MS identification of *Catha edulis* stimulant-active principles. *Forensic Sci Int*, 78: 39-46.
- [26] Chappell JS, Lee MM. (2010) Cathinone preservation in khat evidence via drying. *Forensic Sci Int*, 195: 108-120.
- [27] Gambaro V, Arnoldi S, Colombo ML, Dell'Acqua L, Guerrini K, Roda G. (2012) Determination of the active principles of *Catha edulis*: quali-quantitative analysis of cathinone, cathine, and phenylpropanolamine. *Forensic Sci Int*, 217: 87-92.
- [28] Dell'Acqua L, Roda G, Arnoldi S, Rusconi C, Turati L, Gambaro V. (2013) Improved GC method for the determination of the active principles of *Catha edulis*. *J Chromatogr B*, 929: 142-148.
- [29] Ujváry I. (2013) Új és aggasztó fejlemények az élvezeti célra használt szintetikus pszichoaktív szerek piacán. *Magy Kém Lapja*, 68: 70-74.
- [30] Strano-Rossi S, Colamonici C, Botrè F. (2008) Parallel analysis of stimulants in saliva and urine by gas chromatography/mass spectrometry: perspectives for "in competition" anti-doping analysis. *Anal Chim Acta*, 606: 217-222.
- [31] Guo L, Lin Z, Huang Z, Liang H, Jiang Y, Ye Y, Wu Z, Zhang R, Zhang Y, Rao Y. (2015) Simple and rapid analysis of four amphetamines in human whole blood and urine using liquid-liquid extraction without evaporation/derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Toxicol*, 33: 104-111.
- [32] Meng L, Zhang W, Meng P, Zhu B, Zheng K. (2015) Comparison of hollow fiber liquid-phase microextraction and ultrasound-assisted low-density solvent dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of drugs of abuse in biological samples by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 989: 46-53.
- [33] Ishida T, Kudo K, Inoue H, Tsuji A, Kojima T, Ikeda N. (2006) Rapid screening for and simultaneous semiquantitative analysis of thirty abused drugs in human urine samples using gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol*, 30: 468-477.
- [34] Scheidweiler KB, Huestis MA. (2006) A validated gas chromatographic-electron impact ionization mass spectrometric method for methylenedioxymethamphetamine (MDMA), methamphetamine and metabolites in oral fluid. *J Chromatogr B*, 835: 90-99.
- [35] Lin HR, Lua AC. (2006) Simultaneous determination of amphetamines and ketamines in urine by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 20: 1724-1730.

- [36] Pirnay SO, Abraham TT, Huestis MA. (2006) Sensitive gas chromatography-mass spectrometry method for simultaneous measurement of MDEA, MDMA, and metabolites HMA, MDA, and HMMA in human urine. *Clin Chem*, 52: 1728-1734.
- [37] Hidvégi E, Fábíán P, Hideg Z, Somogyi G. (2006) GC-MS determination of amphetamines in serum using on-line trifluoroacetylation. *Forensic Sci Int*, 161: 119-123.
- [38] Tzing SH, Ghule A, Liu JY, Ling YC. (2006) On-line derivatization gas chromatography with furan chemical ionization tandem mass spectrometry for screening of amphetamines in urine. *J Chromatogr A*, 1137: 76-83.
- [39] Fujii H, Hara K, Kashimura S, Kageura M, Kashiwagi M, Miyoshi A, Ikeda S. (2006) Rapid GC-MS analysis of methamphetamine and its metabolites in urine—application of a short narrow-bore capillary column to GC-MS. *J Chromatogr B*, 842: 116-120.
- [40] Wang SM, Lin CC, Li TL, Shih CY, Giang YS, Liu RH. (2006) Distribution characteristics of methamphetamine and amphetamine in urine and hair specimens collected from alleged methamphetamine users in northern Taiwan. *Anal Chim Acta*, 576: 140-146.
- [41] Saito T, Mase H, Takeichi S, Inokuchi S. (2007) Rapid simultaneous determination of ephedrines, amphetamines, cocaine, cocaine metabolites, and opiates in human urine by GC-MS. *J Pharm Biomed Anal*, 43: 358-363.
- [42] Kumazawa T, Hasegawa C, Lee XP, Hara K, Seno H, Suzuki O, Sato K. (2007) Simultaneous determination of methamphetamine and amphetamine in human urine using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 44: 602-607.
- [43] Hasegawa C, Kumazawa T, Lee XP, Marumo A, Shinmen N, Seno H, Sato K. (2007) Pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography - mass spectrometry for the determination of methamphetamine and amphetamine in human whole blood. *Anal Bioanal Chem*, 389: 563-570.
- [44] Westphal F, Franzelius C, Schäfer J, Schütz HW, Rochholz G. (2007) Development of a validated method for the simultaneous determination of amphetamine, methamphetamine and methylenedioxyamphetamines (MDA, MDMA, MDEA) in serum by GC-MS after derivatisation with perfluorooctanoyl chloride. *Accred Qual Assur*, 12: 335-342.

- [45] De Martinis BS, Barnes AJ, Scheidweiler KB, Huestis MA. (2007) Development and validation of a disk solid phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry method for MDMA, MDA, HMMA, HMA, MDEA, methamphetamine and amphetamine in sweat. *J Chromatogr B*, 852: 450-458.
- [46] Kim JY, Jung KS, Kim MK, Lee JI, In MK. (2007) Simultaneous determination of psychotropic phenylalkylamine derivatives in human hair by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 21: 1705-1720.
- [47] Valtier S, Phelix CF, Cody JT. (2007) Analysis of MDMA and its metabolites in urine and plasma following a neurotoxic dose of MDMA. *J Anal Toxicol*, 31: 138-143.
- [48] Kikura-Hanajiri R, Kawamura M, Saisho K, Kodama Y, Goda Y. (2007) The disposition into hair of new designer drugs; methylone, MBDB and methcathinone. *J Chromatogr B*, 855: 121-126.
- [49] Chung LW, Liu GJ, Li ZG, Chang YZ, Lee MR. (2008) Solvent-enhanced microwave-assisted derivatization following solid-phase extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for determination of amphetamines in urine. *J Chromatogr B*, 874: 115-118.
- [50] Miki A, Katagi M, Zaito K, Nishioka H, Tsuchihashi H. (2008) Development of a two-step injector for GC-MS with on-column derivatization, and its application to the determination of amphetamine-type stimulants (ATS) in biological specimens. *J Chromatogr B*, 865: 25-32.
- [51] Kim E, Lee J, Choi H, Han E, Park Y, Choi H, Chung H. (2008) Comparison of methamphetamine concentrations in oral fluid, urine and hair of twelve drug abusers using solid-phase extraction and GC-MS. *Ann Toxicol Anal*, 20: 145-153.
- [52] Kolbrich EA, Lowe RH, Huestis MA. (2008) Two-dimensional gas chromatography/electron-impact mass spectrometry with cryofocusing for simultaneous quantification of MDMA, MDA, HMMA, HMA, and MDEA in human plasma. *Clin Chem*, 54: 379-387.
- [53] Lee S, Park Y, Yang W, Han E, Choe S, In S, Lim M, Chung H. (2008) Development of a reference material using methamphetamine abusers' hair samples for the determination of methamphetamine and amphetamine in hair. *J Chromatogr B*, 865: 33-39.

- [54] Wu YH, Lin KL, Chen SC, Chang YZ. (2008) Integration of GC/EI-MS and GC/NCI-MS for simultaneous quantitative determination of opiates, amphetamines, MDMA, ketamine, and metabolites in human hair. *J Chromatogr B*, 870: 192-202.
- [55] Wu YH, Lin KL, Chen SC, Chang YZ. (2008) Simultaneous quantitative determination of amphetamines, ketamine, opiates and metabolites in human hair by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 22: 887-897.
- [56] Scheidweiler KB, Barnes AJ, Huestis MA. (2008) A validated gas chromatographic–electron impact ionization mass spectrometric method for methamphetamine, methylenedioxymethamphetamine (MDMA), and metabolites in mouse plasma and brain. *J Chromatogr B*, 876: 266-276.
- [57] Miyaguchi H, Iwata YT, Kanamori T, Tsujikawa K, Kuwayama K, Inoue H. (2009) Rapid identification and quantification of methamphetamine and amphetamine in hair by gas chromatography/mass spectrometry coupled with micropulverized extraction, aqueous acetylation and microextraction by packed sorbent. *J Chromatogr A*, 1216: 4063-4070.
- [58] Johansen SS, Jornil J. (2009) Determination of amphetamine, methamphetamine, MDA and MDMA in human hair by GC-EI-MS after derivatization with perfluorooctanoyl chloride. *Scand J Clin Lab Invest*, 69: 113-120.
- [59] Marais AA, Laurens JB. (2009) Rapid GC-MS confirmation of amphetamines in urine by extractive acylation. *Forensic Sci Int*, 183: 78-86.
- [60] Meng P, Zhu D, He H, Wang Y, Guo F, Zhang L. (2009) Determination of amphetamines in hair by GC/MS after small-volume liquid extraction and microwave derivatization. *Anal Sci*, 25: 1115-1118.
- [61] Chung LW, Lin KL, Yang TC, Lee MR. (2009) Orthogonal array optimization of microwave-assisted derivatization for determination of trace amphetamine and methamphetamine using negative chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1216: 4083-4089.
- [62] da Silva DG, de Pinho PG, Pontes H, Ferreira L, Branco P, Remião F, Carvalho F, Bastos ML, Carmo H. (2010) Gas chromatography-ion trap mass spectrometry method for the simultaneous measurement of MDMA (ecstasy) and its metabolites, MDA, HMA, and HMMA in plasma and urine. *J Chromatogr B*, 878: 815-822.

- [63] Meng P, Wang Y. (2010) Small volume liquid extraction of amphetamines in saliva. *Forensic Sci Int*, 197: 80-84.
- [64] Merola G, Gentili S, Tagliaro F, Macchia T. (2010) Determination of different recreational drugs in hair by HS-SPME and GC/MS. *Anal Bioanal Chem*, 397: 2987-2995.
- [65] Kim JY, Shin SH, Lee JI, In MK. (2010) Rapid and simple determination of psychotropic phenylalkylamine derivatives in human hair by gas chromatography-mass spectrometry using micro-pulverized extraction. *Forensic Sci Int*, 196: 43-50.
- [66] Kim JY, Shin SH, In MK. (2010) Determination of amphetamine-type stimulants, ketamine and metabolites in fingernails by gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Sci Int*, 194: 108-114.
- [67] de la Torre R, Civit E, Svaizer F, Lotti A, Gottardi M, Miozzo M. (2010) High throughput analysis of drugs of abuse in hair by combining purposely designed sample extraction compatible with immunometric methods used for drug testing in urine. *Forensic Sci Int*, 196: 18-21.
- [68] Nakamoto A, Nishida M, Saito T, Kishiyama I, Miyazaki S, Murakami K, Nagao M, Namura A. (2010) Monolithic silica spin column extraction and simultaneous derivatization of amphetamines and 3,4-methylenedioxyamphetamines in human urine for gas chromatographic-mass spectrometric detection. *Anal Chim Acta*, 661: 42-46.
- [69] Horcharoen P, Junkuy A, Stribanditmongkol P. (2011) Method validation of methamphetamine and amphetamine in hair analysis with its application to yaba abusers. *Chiang Mai Med J*, 50: 31-41.
- [70] Lee HH, Lee JF, Lin SY, Chen PH, Chen BH. (2011) Simultaneous determination of HFBA-derivatized amphetamines and ketamines in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol*, 35: 162-169.
- [71] Souza DZ, Boehl PO, Comiran E, Mariotti KC, Pechansky F, Duarte PC, De Boni R, Froehlich PE, Limberger RP. (2011) Determination of amphetamine-type stimulants in oral fluid by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta*, 696: 67-76.
- [72] Pantaleão LdN, Paranhos BAPB, Yonamine M. (2012) Hollow-fiber liquid-phase microextraction of amphetamine-type stimulants in human hair samples. *J Chromatogr A*, 1254: 1-7.

- [73] Choi H, Baeck S, Jang M, Lee S, Choi H, Chung H. (2012) Simultaneous analysis of psychotropic phenylalkylamines in oral fluid by GC-MS with automated SPE and its application to legal cases. *Forensic Sci Int*, 215: 81-87.
- [74] Kumazawa T, Hasegawa C, Hara K, Uchigasaki S, Lee XP, Seno H, Suzuki O, Sato K. (2012) Molecularly imprinted solid-phase extraction for the selective determination of methamphetamine, amphetamine, and methylenedioxyphenylalkylamine designer drugs in human whole blood by gas chromatography-mass spectrometry. *J Sep Sci*, 35: 726-733.
- [75] Nagai T, Kurosu A, Matsushima K, Maeda J, Tohei A, Yamauchi S, Hitosugi M, Tokudome S. (2012) Simultaneous identification of the enantiomers and diastereomers of N,O-di-trifluoroacetylated ephedrine and norephedrine in blood plasma using chiral capillary gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring. *J Anal Toxicol*, 36: 96-105.
- [76] Kim JY, Cheong JC, Lee JI, Son JH, In MK. (2012) Rapid and simple GC-MS method for determination of psychotropic phenylalkylamine derivatives in nails using micro-pulverized extraction. *J Forensic Sci*, 57: 228-233.
- [77] Namera A, Saito T, Miyazaki S, Ohta S, Oikawa H, Torikoshi A, Shiraishi H, Nagao M. (2013) Sequential extraction of amphetamines, opiates, and 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid from a limited volume of urine using a monolithic silica spin column coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Toxicol*, 31: 312-321.
- [78] Hartman RL, Desrosiers NA, Barnes AJ, Yun K, Scheidweiler KB, Kolbrich-Spargo EA, Gorelick DA, Goodwin RS, Huestis MA. (2014) 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and metabolites disposition in blood and plasma following controlled oral administration. *Anal Bioanal Chem*, 406: 587-599.
- [79] Brčić Karačonji I, Brajenović N. (2014) Evaluation of amphetamine-type stimulant abuse through hair analysis: results from 12 years of work. *Arh Hig Rada Toksikol*, 65: 225-230.
- [80] Mariotti KdC, Schuh RS, Ferranti P, Ortiz RS, Souza DZ, Pechansky F, Froehlich PE, Limberger RP. (2014) Simultaneous analysis of amphetamine-type stimulants in plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol*, 38: 432-437.

- [81] Han E, Lee S, In S, Park M, Park Y, Cho S, Shin J, Lee H. (2015) Relationship between methamphetamine use history and segmental hair analysis findings of MA users. *Forensic Sci Int*, 254: 59-67.
- [82] Yang W, Barnes AJ, Ripple MG, Fowler DR, Cone EJ, Moolchan ET, Chung H, Huestis MA. (2006) Simultaneous quantification of methamphetamine, cocaine, codeine, and metabolites in skin by positive chemical ionization gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 833: 210-218.
- [83] Miranda-G E, Sordo M, Salazar AM, Contreras C, Bautista L, García AER, Ostrosky-Wegman P. (2007) Determination of amphetamine, methamphetamine, and hydroxyamphetamine derivatives in urine by gas chromatography-mass spectrometry and its relation to CYP2D6 phenotype of drug users. *J Anal Toxicol*, 30: 31-36.
- [84] Pujadas M, Pichini S, Civit E, Santamariña E, Perez K, de la Torre R. (2007) A simple and reliable procedure for the determination of psychoactive drugs in oral fluid by gas chromatography–mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 44: 594-601.
- [85] Kim JY, Cheong JC, Kim MK, Lee JI, In MK. (2008) Simultaneous determination of amphetamine-type stimulants and cannabinoids in fingernails by gas chromatography-mass spectrometry. *Arch Pharm Res*, 31: 805-813.
- [86] Cheong JC, Suh SI, Ko BJ, Kim JY, In MK, Cheong WJ. (2010) Gas chromatography-mass spectrometric method for the screening and quantification of illicit drugs and their metabolites in human urine using solid-phase extraction and trimethylsilyl derivatization. *J Sep Sci*, 33: 1767-1778.
- [87] Joya X, Pujadas M, Falcón M, Civit E, Garcia-Algar O, Vall O, Pichini S, Luna A, de la Torre R. (2010) Gas chromatography–mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of drugs of abuse in human placenta at 12th week of gestation. *Forensic Sci Int*, 196: 38-42.
- [88] Adamowicz P, Kała M. (2010) Simultaneous screening for and determination of 128 date-rape drugs in urine by gas chromatography–electron ionization-mass spectrometry. *Forensic Sci Int*, 198: 39-45.
- [89] Aleksa K, Walasek P, Fulga N, Kapur B, Gareri J, Koren G. (2012) Simultaneous detection of seventeen drugs of abuse and metabolites in hair using solid phase micro extraction (SPME) with GC/MS. *Forensic Sci Int*, 218: 31-36.

- [90] Pelicão FS, Peres MD, Pissinate JF, de Martinis BS. (2014) A one-step extraction procedure for the screening of cocaine, amphetamines and cannabinoids in postmortem blood samples. *J Anal Toxicol*, 38: 341-348.
- [91] Martins LF, Yegles M, Chung H, Wennig R. (2006) Sensitive, rapid and validated gas chromatography/negative ion chemical ionization-mass spectrometry assay including derivatisation with a novel chiral agent for the enantioselective quantification of amphetamine-type stimulants in hair. *J Chromatogr B*, 842: 98-105.
- [92] Rasmussen LB, Olsen KH, Johansen SS. (2006) Chiral separation and quantification of R/S-amphetamine, R/S-methamphetamine, R/S-MDA, R/S-MDMA, and R/S-MDEA in whole blood by GC-EI-MS. *J Chromatogr B*, 842: 136-141.
- [93] Peters FT, Samyn N, Kraemer T, Riedel WJ, Maurer HH. (2007) Negative-ion chemical ionization gas chromatography–mass spectrometry assay for enantioselective measurement of amphetamines in oral fluid: application to a controlled study with MDMA and driving under the influence cases. *Clin Chem*, 53: 702-710.
- [94] Wan Aasim WR, Gan SH, Tan SC. (2008) Development of a simultaneous liquid-liquid extraction and chiral derivatization method for stereospecific GC-MS analysis of amphetamine-type stimulants in human urine using fractional factorial design. *Biomed Chromatogr*, 22: 1035-1042.
- [95] Strano-Rossi S, Botrè F, Bermejo AM, Tabernero MJ. (2009) A rapid method for the extraction, enantiomeric separation and quantification of amphetamines in hair. *Forensic Sci Int*, 193: 95-100.
- [96] Wan Raihana WA, Gan SH, Tan SC. (2011) Stereoselective method development and validation for determination of concentrations of amphetamine-type stimulants and metabolites in human urine using a simultaneous extraction-chiral derivatization approach. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 879: 8-16.
- [97] Chiang JS, Huang SD. (2008) Simultaneous derivatization and extraction of amphetamine and methylenedioxyamphetamine in urine with headspace liquid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1185: 19-22.
- [98] Lin DL, Wang SM, Wu CH, Chen BG, Liu RH. (2008) Chemical derivatization for the analysis of drugs by GC-MS — a conceptual review. *J Food Drug Anal*, 16: 1-10.

- [99] Zaikin V, Halket J. A handbook of derivatives for mass spectrometry. IM Publications LLP, Chichester, 2009: 33-51.
- [100] Pierce AE. Silylation of organic compounds. Pierce Chemical Company, Rockford, 1968.
- [101] Sebők Á, Vasánits-Zsigrai A, Helenkár A, Záráy Gy, Monár-Perl I. (2009) Multiresidue analysis of pollutants as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1216: 2288-2301.
- [102] Helenkár A, Sebők Á, Záráy Gy, Molnár-Perl I, Vasánits-Zsigrai A. (2010) The role of the acquisition methods in the analysis of the non-steroidal antiinflammatory drugs in Danube River by gas chromatography - mass spectrometry. *Talanta*, 82: 600-607.
- [103] Andrási N, Helenkár A, Záráy Gy, Vasánits A, Molnár-Perl I. (2011) Derivatization and fragmentation pattern analysis of natural and synthetic steroids, as their trimethylsilyl (oxime) ether derivatives by gas chromatography mass spectrometry: analysis of dissolved steroids in wastewater samples. *J Chromatogr A*, 1218: 1878–1890.
- [104] Faludi T, Vasánits-Zsigrai A, Záráy Gy, Molnár-Perl I. (2015) Identification, quantification and distribution of substituted phenols in the dissolved and suspended phases of water samples by gas chromatography tandem mass spectrometry: derivatization, mass fragmentation and acquisition studies. *Microchem J*, 118: 45-54.
- [105] Barta K, Csékei M, Csihony S, Hasan M, Horváth IT, Pusztai Z, Vlád G. (200) A zöld kémia tizenkét alapelve. *Magy Kém Lapja*, 55: 173-181.
- [106] Liu RH, Canfield DV, Wang SM. Quantitation and mass spectrometric data of drugs and isotopically labeled analogs. CRC Press, Boca Raton, 2009: 16, 52, 245.
- [107] Capillary GC-MS. Research Institute for Chromatography, Kortrijk (*oktatási segédlet*).
- [108] Olah GA. (1972) The general concept and structure of carbocations based on differentiation of trivalent ("classical") carbenium ions from three-center bound penta- of tetracoordinated ("nonclassical") carbonium ions. The role of carbocations in electrophilic reactions. *J Am Chem Soc*, 94: 808-820.
- [109] Becke AD. (1993) Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys*, 98: 5648-5652.
- [110] Hehre WJ, Radom L, Schleyer PvR, Pople JA. Ab initio molecular orbital theory. Wiley, New York, 1986.

- [111] Molnár B, Csámpai A, Molnár-Perl I. (2015) Hexamethyldisilazane as an acylation generator for perfluorocarboxylic acids in quantitative derivatization of primary phenylalkyl amines confirmed by GC/MS and computations. *Anal Chem*, 87: 848-852.
- [112] Rösner P. *Mass spectra of designer drugs*. Wiley-VCH, Weinheim, 2015.
- [113] Molnár B, Fodor B, Boldizsár I, Molnár-Perl I. (2015) Quantitative silylation speciations of primary phenylalkyl amines, including amphetamine and 3,4-methylenedioxyamphetamine prior to their analysis by GC/MS. *Anal Chem*, 87: 10188-10192.
- [114] Westphal F, Junge T, Girreser U, Greibl W, Doering C. (2012) Mass, NMR and IR spectroscopic characterization of pentedrone and pentylone and identification of their isocathinone by-products. *Forensic Sci Int*, 217: 157-167.
- [115] Tsujikawa K, Mikuma T, Kuwayama K, Miyaguchi H, Kanamori T, Iwata YT, Inoue H. (2012) Degradation pathways of 4-methylmethcathinone in alkaline solution and stability of methcathinone analogs in various pH solutions. *Forensic Sci Int*, 220: 103-110.
- [116] Nic Daeid N, Savage KA, Ramsay D, Holland C, Sutcliffe OB. (2014) Development of gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) and other rapid screening methods for the analysis of 16 ‘legal high’ cathinone derivatives. *Sci Just*, 54: 22-31.
- [117] Leffler AM, Smith PB, de Armas A, Dorman FL. (2014) The analytical investigation of synthetic street drugs containing cathinone analogs. *Forensic Sci Int*, 234: 50-56.
- [118] Hamby D, Burnett A, Jablonsky M, Twamley B, Kavanagh PV, Gardner EA. (2015) Identification of 2-(ethylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-pentanone (4-MEAP), a new “legal high” sold by an internet vendor as 4-methyl pentedrone. *J Forensic Sci*, 60: 721-726.
- [119] Helfer AG, Turcant A, Boels D, Ferec S, Lelièvre B, Welter J, Meyer MR, Maurer HH. (2015) Elucidation of the metabolites of the novel psychoactive substance 4-methyl-N-ethyl-cathinone (4-MEC) in human urine and pooled liver microsomes by GC-MS and LC-HR-MS/MS techniques and of its detectability by GC-MS or LC-MSⁿ standard screening approaches. *Drug Test Anal*, 7: 368-375.

- [120] Archer RP. (2009) Fluoromethcathinone, a new substance of abuse. *Forensic Sci Int*, 185: 10-20.
- [121] Tsujikawa K, Mikuma T, Kuwayama K, Miyaguchi H, Kanamori T, Iwata Y, Inoue H. (2013) Identification and differentiation of methcathinone analogs by gas chromatography–mass spectrometry. *Drug Test Anal*, 5: 670-677.
- [122] Araújo AM, Valente MJ, Carvalho M, da Silva DD, Gaspar H, Carvalho F, de Lourdes Bastos M, de Pinho PG. (2015) Raising awareness of new psychoactive substances: chemical analysis and in vitro toxicity screening of ‘legal high’ packages containing synthetic cathinones. *Arch Toxicol*, 89: 757-771.
- [123] Maheux CR, Copeland CR. (2012) Chemical analysis of two new designer drugs: buphedrone and pentedrone. *Drug Test Anal*, 4: 17-23.
- [124] Maheux CR, Copeland CR. (2010) Characterization of three methcathinone analogs: 4-methylmethcathinone, methylone, and bk-MBDB. *Microgram J*, 7: 42-49.
- [125] Molnár B, Fodor B, Boldizsár I, Molnár-Perl I. (2016) Trimethylsilyl speciations of cathine, cathinone and norephedrine followed by gas chromatography mass spectrometry: direct sample preparation and analysis of khatamines. *J Chromatogr A*, 1440: 172-178.

10. Saját publikációk

Az értekezés témájában megjelent közlemények:

Molnár B, Fodor B, Boldizsár I, Molnár-Perl I. (2016) Trimethylsilyl speciations of cathine, cathinone and norephedrine followed by gas chromatography mass spectrometry: Direct sample preparation and analysis of khatamines. *J Chromatogr A*, 1440: 172-178.

Molnár B, Fodor B, Boldizsár I, Molnár-Perl I. (2015) Quantitative silylation speciations of primary phenylalkyl amines, including amphetamine and 3,4-methylenedioxyamphetamine prior to their analysis by GC/MS. *Anal Chem*, 87: 10188-10192.

Molnár B, Csámpai A, Molnár-Perl I. (2015) Hexamethyldisilazane as an acylation generator for perfluorocarboxylic acids in quantitative derivatization of primary phenylalkyl amines confirmed by GC/MS and computations. *Anal Chem*, 87: 848-852.

Molnár B, Molnár-Perl I. (2015) The role of alkylsilyl derivatization techniques in the analysis of illicit drugs by gas chromatography. *Microchem J*, 118: 101-109. *Összefoglaló közlemény*

Az értekezéstől független közlemények:

Andrási N, **Molnár B**, Dobos B, Vasánits-Zsigrai A, Záray Gy, Molnár-Perl I. (2013) Determination of steroids in the dissolved and in the suspended phases of wastewater and Danube River samples by gas chromatography, tandem mass spectrometry. *Talanta*, 115: 367-373.

Perlné Molnár I, Zsigrainé Vasánits A, Sebők Á, Helenkár A, Andrási N, Faludi T, **Molnár B**, Záray Gy. (2012) Környezeti vizek szerves szennyezőinek azonosítása és meghatározása, trimetilszilil (oxim) éter/észter származékokként, a gázkromatográfia tömegspektrometria felhasználásával. *Magy Kém Foly*, 118: 55-64. *Összefoglaló közlemény*

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom **Perlné Dr. Molnár Ibolya** egyetemi tanárnak, áldozatos munkájáért, önzetlen támogatásáért és sokoldalú segítségéért. Témavezetőként kitartó kutatásra és szakmai igényességre tanított. Hálás vagyok nélkülözhetetlen tanácsaiért, bizalmáért és szeretetéért.

Köszönet illeti **Dr. Csámpai Antal** egyetemi tanárt, a reakciómechanizmusok megértésében nyújtott segítségéért, az elméleti kémiai számításokért és fáradhatatlan türelméért.

Hálás vagyok **Fodor Blanka** gyógyszerészhallgatónak, hogy szorgalmas munkájával segítette a kutatást. Köszönöm **Dr. Boldizsár Imre** egyetemi adjunktusnak, a növényminták beszerzését és előkészítését.

Köszönöm **Dr. Hidvégi Előd**nek és **Dr. Nagy Júliának**, az Igazságügyi Szakértői és Kutató Intézetek, valamint a Bűnügyi Szakértői és Kutatóintézet munkatársainak, hogy a kábítószer-standardokat, kutatási célra rendelkezésemre bocsájtották. Hálás vagyok **Dr. Róna Kálmán** egyetemi magántanárnak, hogy az Igazságügyi és Biztosítás-orvostani Intézetben vizsgált vizeletminták egy részét felhasználhattam a kutatáshoz. Köszönöm **Dr. Dános Béla** egyetemi tanárnak és **László-Bencsik Ábel**nek, a Budakalászi Gyógynövénykutató Intézet Zrt. munkatársának, hogy a *Catha edulis* levelek khatamintartalmát meghatározhattam.

Hálás vagyok **Dr. Faludi Tamás**nak, a mindennapos gyakorlati problémák megoldásában nyújtott segítségéért, barátságáért. Köszönöm **Zsigrainé Dr. Vasanits Anikó** egyetemi adjunktusnak, **Dr. Andrási Nóra** és **Dr. Helenkár András** volt doktoranduszoknak, hogy tanítottak és támogattak a kísérleti feladatok során.

Köszönöm **Dr. Láng Győző** és **Dr. Salma Imre** tanszékvezető egyetemi tanároknak, hogy kutatómunkámat az ELTE Kémiai Intézet Analitikai Kémiai Tanszékén végezhettem. Hálás vagyok munkatársaimnak, akik figyelemmel kísérték és támogatták kutatásaimat. Köszönet a **Richter Gedeon Centenáriumi Alapítványnak**, hogy anyagi támogatásukkal lehetővé tették doktori munkám befejezését, valamint a **Semmelweis Egyetemnek** és a **Magyar Kémkusok Egyesületének**, hogy hozzájárultak eredményeim nemzetközi konferencián való bemutatásához.

Köszönöm családom és barátaim kitartó támogatását, türelmét és szeretetét.