

*Drog Fókuszpont, Budapest, 2011. december 6.*

# **Új pszichoaktív anyagok kimutatása biológiai mintákból**

***Hidvégi Előd, Dobos Adrienn,  
Dr. Somogyi Gábor Pál  
ISZKI - Országos Toxikológiai Intézet***

# *Általános bevezetés*

# A toxikológia definíciója

Kémiai anyagok élő szervezetekre gyakorolt súlyos hatásával foglalkozó tudomány.

## A toxikológia ágai

- Ökotoxikológia
- Klinikai toxikológia
- Környezeti toxikológia
- *In vitro* toxikológia
- Igazságügyi toxikológia
- *Stb.*

# Toxikológiai vizsgálatok célja

## 1. **DIAGNOSZTIKUS SZOLGÁLTATÁS** (büntetőeljárást nem von maga után, klinikai és igazságügyi labor is nyújthat)

- SZIMPTOMATOLÓGIA (adott tünetegyüttes háttérében van-e toxikus hatás)
- TERÁPIA (hatásos gyógymód megválasztása)
- MONITORIZÁLÁS (a terápia hatásosságát méri intoxikált esetben)
- REHABILITÁCIÓ (indikátor a további kezeléshez)

## 2. **IGAZSÁGÜGYI SZOLGÁLTATÁS** (büntetőeljárást vonhat maga után, csak igazságügyi toxikológiai labor nyújthatja, 282/2007. Korm., 2. melléklet, 3. pont):

Toxikológiai vizsgálatok:

- a) igazságügyi boncolásból származó minták megerősítő vizsgálata
- b) biológiai minták toxikológiai vizsgálata, ha nem esik az a) pontban foglaltak alá (+egyetemi intézetekkel együtt)  
ISZKI Toxikológiai Intézet
- c) anyagmaradványok, minták toxikológiai vizsgálata (+MH Honvéd Egészségügyi Központ)
- g) mérgező hatású anyaggal történt emberi mérgezési eset toxikológiai szakkérdései (+OKBI, MH HEK)

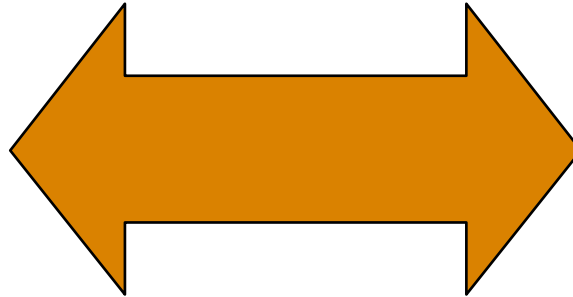
## 3. **KUTATÁS** (módszerek fejlesztése, új eljárások bevezetése, a tudomány gazdagítása)

# IGAZSÁGÜGYI SZOLGÁLTATÁS

## Leggyakrabban a Btk. 282. §-ára hivatkoznak

- A vizsgálat célja lényegét tekintve általában kétféle:

Kábítószer-fogyasztás  
megállapítása,  
valószínűsítése



Vizsgálat  
a kábítószeres  
befolyásoltság  
megítélésének  
elősegítésére

- Rendelkezésre álló minták

- Vizelet (fogyasztás-vizsgálathoz)
- **Vér** (fogyasztás- és befolyásoltság-vizsgálatokhoz)

- Kérdések - válaszok:

- Fogyasztott-e kábítószer, ha igen mit?  
Megadható.
- Milyen mennyiségben van jelen?  
Megadható.
- Mekkora a kábítószeres befolyásoltság mértéke?  
Orvosszakértői feladat.
- Mikor fogyasztotta, mennyit, milyen rendszerességgel?  
Legfeljebb igen nagy bizonytalansággal adható meg.

# ***A vizsgálatok típusai***



# TOXIKOLÓGIAI VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

- **ELV: független két módszer, az egyik specifikus**
- **SZŰRŐVIZSGÁLAT**
  - színreakciók
  - vékonyréteg-kromatográfia (TLC)
  - immunoassay (gyorstesztek, FPIA, CEDIA, stb.)
- **MEGERŐSÍTÉS**
  - gázkromatográfia (GC)
  - nagyhatékonyságú-folyadékkromatográfia (HPLC)
  - tömegspektrometria (MS)
  - kapcsolt technikák: GC-MS, LC-MS, MS-MS

# MÓDSZEREK JELLEMZŐI

## SZŰRŐVIZSGÁLATOK

- egyszerű
- gyors
- **NEM KELLŐEN SPECIFIKUS ÉS SZELEKTÍV!!!!**

## MEGERŐSÍTŐ VIZSGÁLATOK

- GC :**
- nagy felbontás
  - kritikus a forráspont
  - hőstabilitás
  - széles lineáris tartomány (FID)
- HPLC :**
- kisebb felbontás
  - egyszerűbb mintaelőkészítés
  - hőérzékeny vegyületekre is alkalmas
- MS:**
- nagy szelektivitás és érzékenység
  - „ujjlenyomat” (tömegspektrum) a különböző molekulákról
  - direkt szerkezetazonosítás



# Specifikus – Általános

„Érzékenység” ( $1/\overline{LOD}$ )

Egy **általános vizsgálatnak** kisebb az „észlelőképessége” adott vegyületcsoport esetén, mint a célvizsgálatnak.

Egy **specifikus célvizsgálat** eleve csak bizonyos előre definiált vegyület(csoport) érzékeny kimutatására alkalmas.

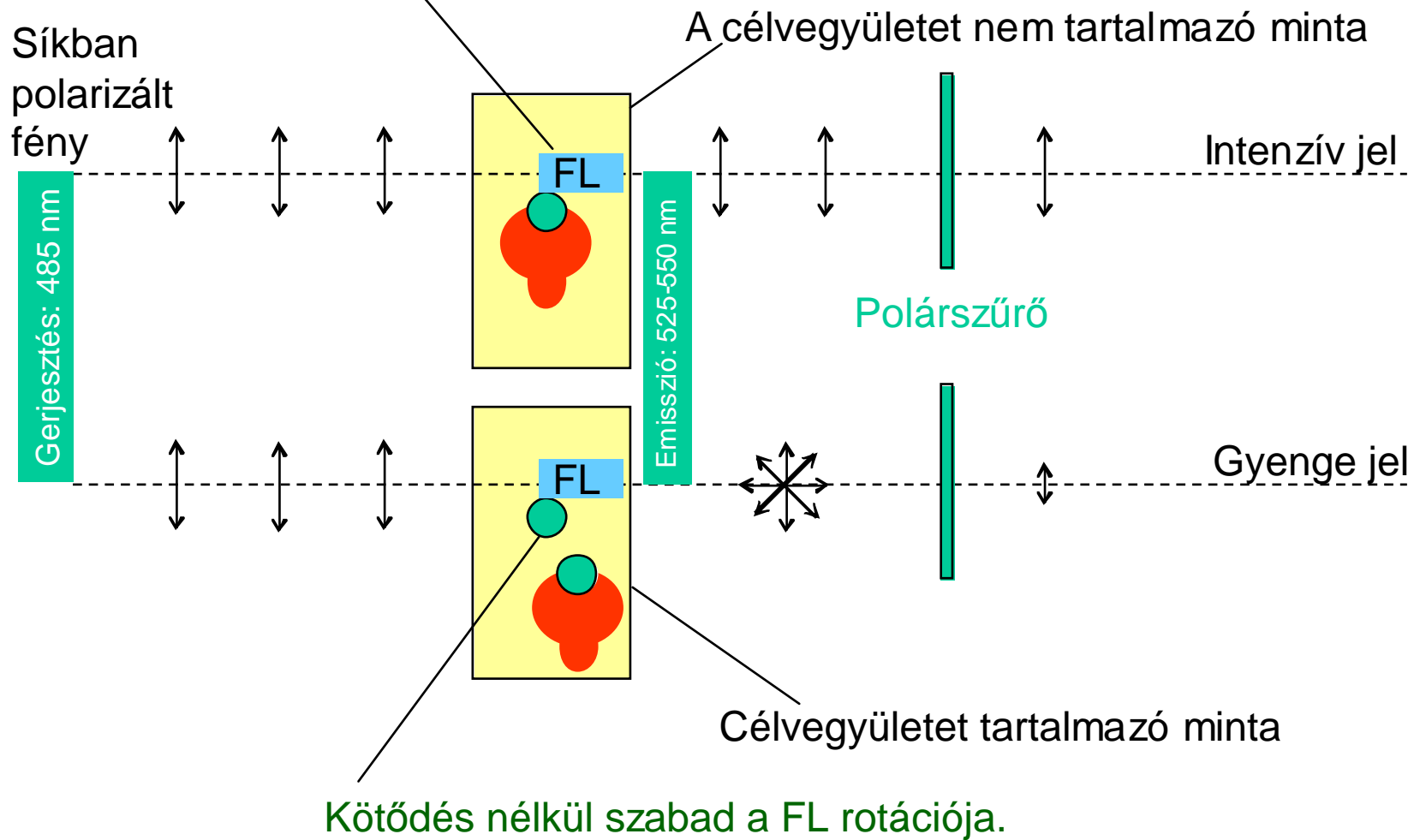
$n_{\text{célvegyület}}$

# Szűrés - megerősítés

	Alkalmas	Nem alkalmas
Fluoreszcens polarizációs immunkémiai eljárás <b>Abbott AxSym®</b>	<b>Vegyületcsoport-specifikus</b> kimutatásra (szűrésre)	<b>Vegyületspecifikus</b> kimutatásra
Gázkromatográf-tömegspektrometriás minőségi és mennyiségi megerősítő vizsgálat <b>Shimadzu GCMS</b>	<b>Vegyületspecifikus</b> kimutatásra, azonosításra, mennyiségi meghatározásra (megerősítésre)	Pl. optikai izomérek elválasztására

# Az FPIA vizsgálat elve

Antitesthez kötődve lassú a FL rotációja:  
nagyobb arányban emittál az eredetihez hasonló polarizációs síkban



FL

● : Fluoreszceinhez (FL) kapcsolt célmolekula

# Abbott AxSYM Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA)

## LOD-értékek:

Ópiátok:	50 ng/ml
Kokain-metabolit:	30 ng/ml
Kannabinoidok:	15 ng/ml
<b>Amfetaminok:</b>	<b>100 ng/ml</b>
Benzodiazepinek:	40 ng/ml
Barbiturátok:	60 ng/ml



# Mire kalibráljuk a tesztet?

<i>TDx® teszt neve</i>	<i>Kalibrációhoz használt komponens</i>
(Amphetamine class)*	d,l-Amfetamin
Amphetamine/Methamphetamine II	d-Amfetamin
Cannabinoids	11-nor-9-karboxi- $\Delta^9$ -THC
Cocaine metabolite	Benzoil-ekgonin
Opiates	Morfin
Barbiturates II	Szekobarbital
Benzodiazepine	Nordiazepam

\*Nem érzékeny a metiléndioxi-származékokra (pl. MDMA), de pl. efedrinre igen.

# Keresztreakciók FPIA vizsgálatnál

## Abbott TDx® Amphetamine/Methamphetamine II assay

Kalibráció: d-Amfetamin (150-8000 ng/ml)

<i>Vegyület</i>	<i>Hozzáadott koncentráció (µg/ml)</i>	<i>Mért koncentráció (µg/ml)</i>	<i>Keresztreaktivitás (%)</i>
I-Amfetamin	3,0	0,92	31
d,I-Amfetamin	3,0	6,51	217
d-MA	3,0	2,86	95
d,I-MDA	3,0	5,31	177
d,I-MDE	3,0	1,22	41
d,I-MDMA	3,0	3,06	102
Fenetilamin	10	0,24	2,4
Fentermin	10	4,40	44
d,I-Efedrin	3000	<i>n.d.</i>	-

# „Cut off” értékek

**Table 5. Cutoff concentrations more frequently used in the European countries participating in the study.**

	Cutoff, µg/L	
	Mean (range)	Modes (freq., %) <sup>a</sup>
Group screened		
Amphetamines	500 (50–1000)	<u>300 (58)</u> 1000 (27)
Opiates	300 (50–1000)	200 (22) <u>300 (68)</u>
Methadone	323 (50–1000)	250 (20) 300 (65) <u>300 (88)</u>
Cocaine	346 (50–3000)	<u>300 (88)</u>
Cannabinoids	54 (10–500)	20 (18) 25 (18) 50 (36) 100 (19)
Substance identified		
Amphetamine	346 (5–1000)	300 (25) 500 (15)
Methamphetamine	396 (5–1000)	300 (17) 500 (20) 1000 (18)
Morphine	292 (5–2000)	300 (31)
Codeine	339 (5–3000)	300 (22)
6-Acetylmorphine	188 (5–1000)	50 (15)
Methadone	269 (5–1500)	300 (31)
EDDP	233 (5–1000)	100 (16) 200 (16) 300 (15)
Benzoylcegonine	243 (5–1000)	200 (20) 300 (30)
Ecgonine methyl ester	120 (5–300)	100 (17) 150 (21) 300 (24)
11-nor-9-COOH-THC	33 (1–400)	20–25 (39) 50 (15)

← SAMHSA

<sup>a</sup> Freq., frequency.

# A megerősítő vizsgálatok alapelvei

1. Kromatográfiás és spektrális információk a célvegyületekről.
2. SIM vizsgálat esetén 3 különböző fragmension szükséges az azonosításhoz.
3. Mennyiségi meghatározáskor a mérési bizonytalanság ismerete szükséges:  
*3 független mintavételt és extrakciót követő 3 párhuzamos analízis.*
4. A mennyiségi meghatározáshoz belső standard használatán alapuljon, ami ideális esetben a célvegyület deuterált analógja.  
*Ellenőrizni kell a deuterált ISTD specifikus fragmenseit és az ISTD tisztaságát.*
5. Mérési sorozat:
  - Vak minta
  - Ismeretlen minta
  - Vak minta
  - Kontrol/kalibráló minta



***Mintaelőkészítés***

# Az kationon- és amfetamin-származékok kivonása vér- és vizeletminákból

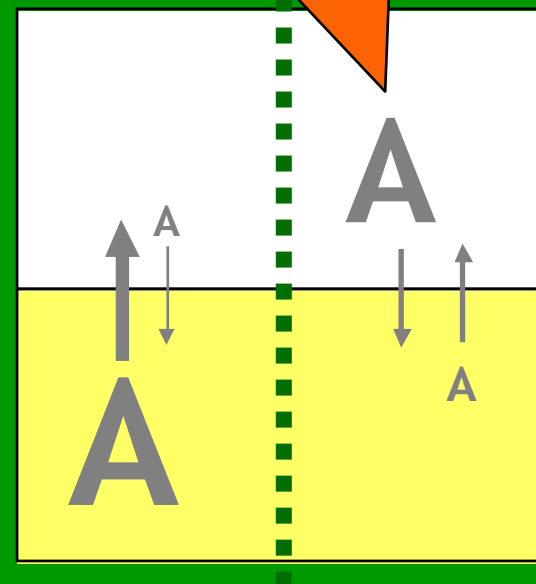
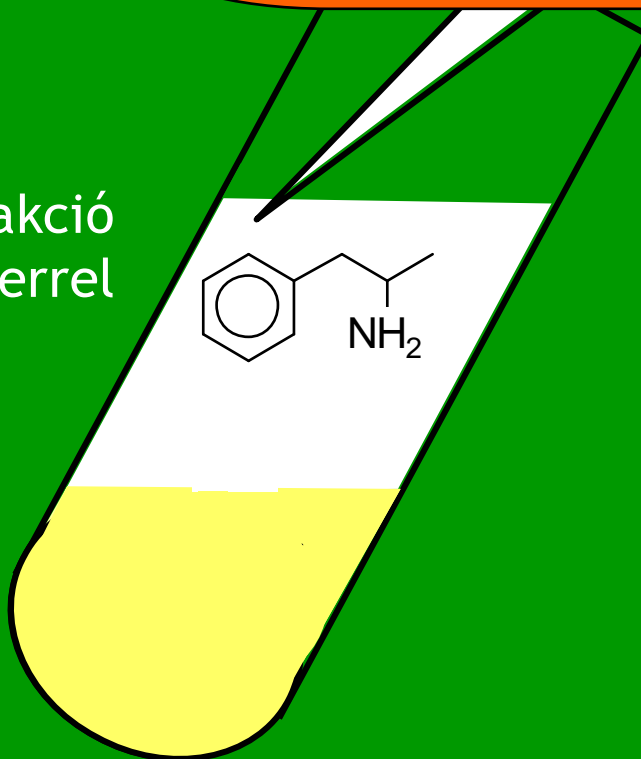
Egyensúly alakul ki:

Sebességek azonosak

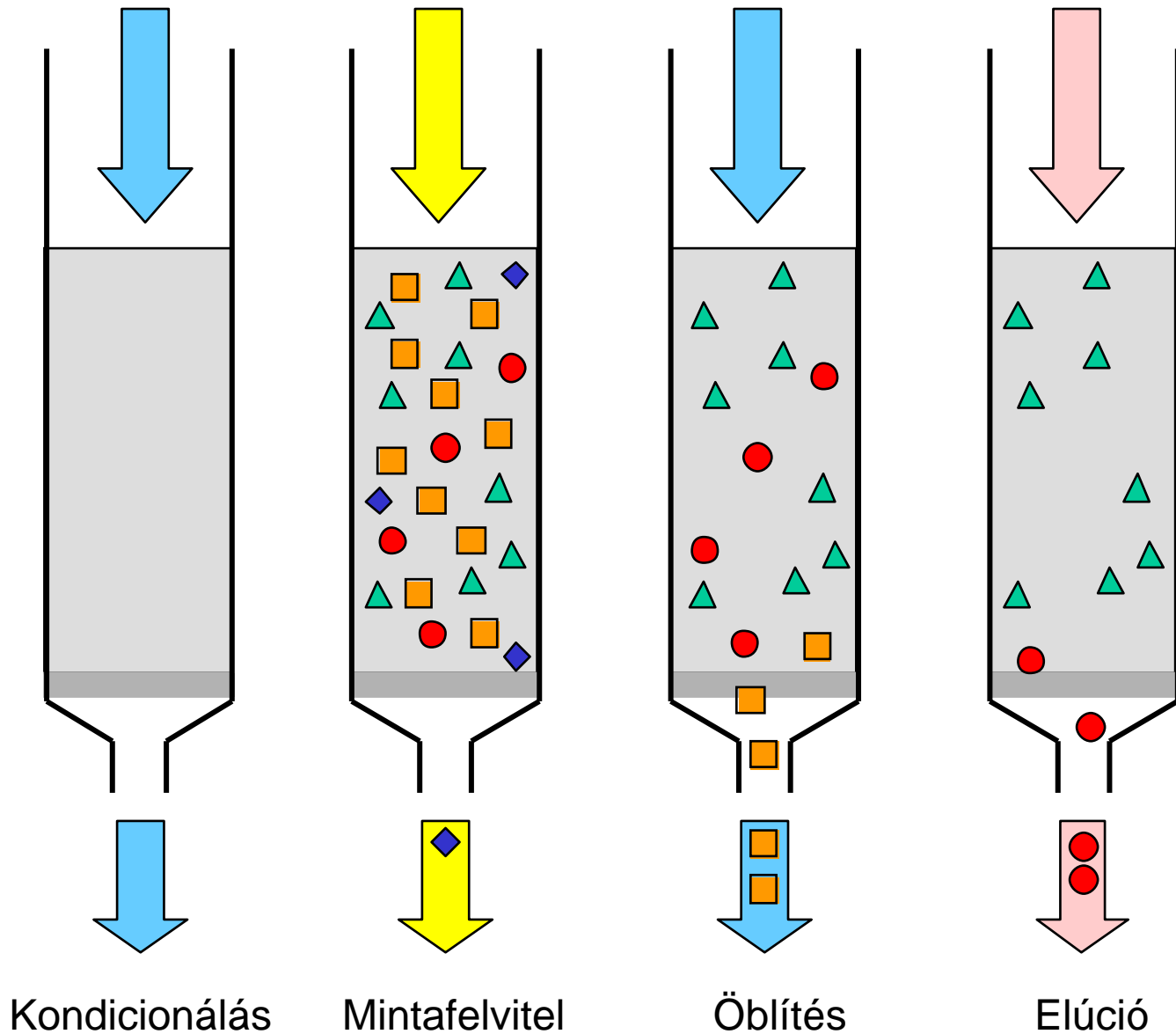
A koncentráció-arány jellemző ( $K$ ,  $\log P$ )

folyadék-folyadék extrakció  
*tert.* butil-metil-éterrel

vizelet,  
lúgosítás

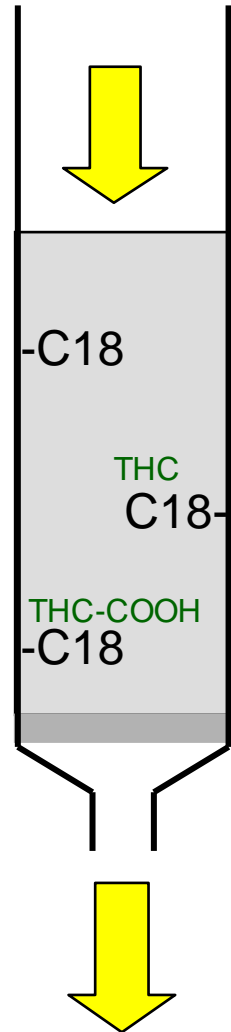


# Szilárd fázisú extrakció (SPE)



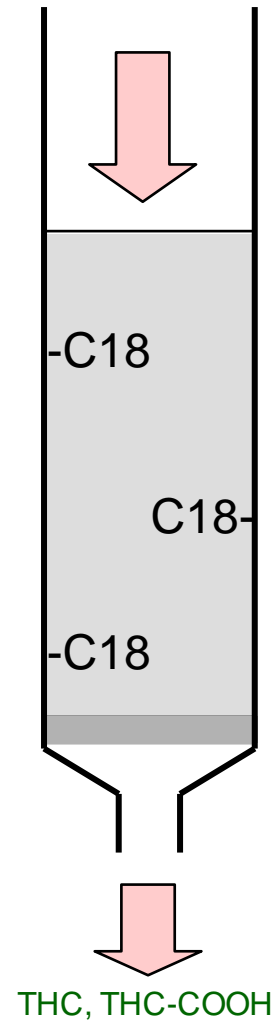
# Oktadecil-szilika (C18)

Alacsony pH



Mintafelvétel

Szerves oldószerkeverék

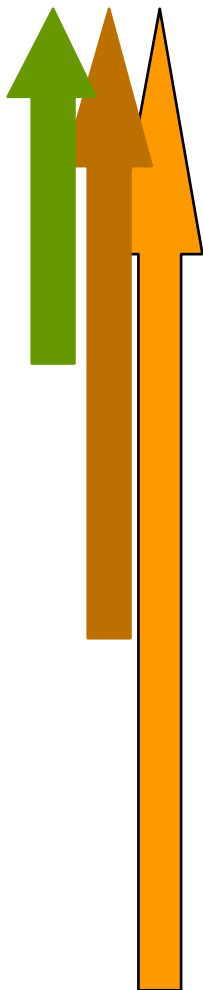


Elúció

# ***Kromatográfiás technikák***

# Kimutatás, azonosítás, mennyiségi meghatározás

Koncentráció



## Mennyiségi meghatározás

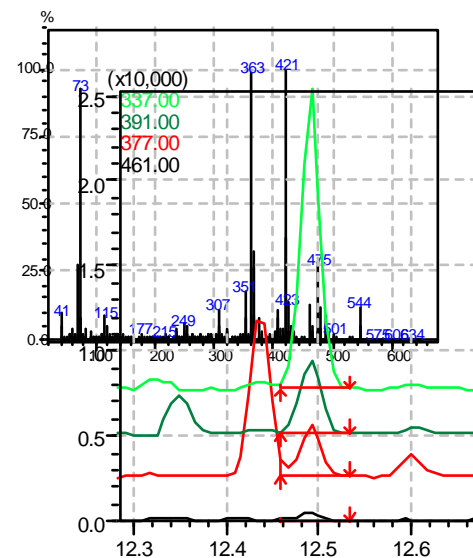
- kalibráció
- reprodukálhatóság, linearitás

## Azonosítás

- retenciós idő és tömegspektrum
- érzékenység, szelektivitás

## Kimutatás

- jel/zaj
- érzékenység



# A GC/MS-vizsgálatokra vonatkozó ajánlások

Toxichem + Krimtech 65(1): 18-24  
(1998)

## Einzelionendetektionen

Bei der Anwendung von Quadrupolmassenspektrometern ist aufgrund der höheren Empfindlichkeit und besseren statistischen Sicherheit die Einzelionendetektion („Selected Ion Monitoring, SIM“) der Analyse über einen großen Massenbereich („Full-Scan“) vorzuziehen. Aus Gründen der Nachweissicherheit sollen bei der Anwendung des SIM-Verfahrens mindestens drei charakteristische Ionen je Analyt registriert werden. Die Signale jedes Ionenchromatogramms müssen die gleiche Retentionszeit besitzen und sollen gaschromatographisch von anderen Substanzen oder Matrixbestandteilen abgetrennt sein.

Tabelle 2: Akzeptierte Toleranzen der relativen Intensitäten von diagnostischen Ionen bei verschiedenen MS-Techniken

Relative Ionenintensität	GC-EI-MS (relativ*)	GC-CI-MS, GC-MS <sup>n</sup> , LC-MS, LC-MS <sup>n**</sup> (relativ*)
>50%	20%	20%
>20-50%	20%	25%
>10-20%	25%	30%
≤10%	50%	50%

\* Relativ = bezogen auf den Wert der relativen Ionenintensität

\*\* n>1

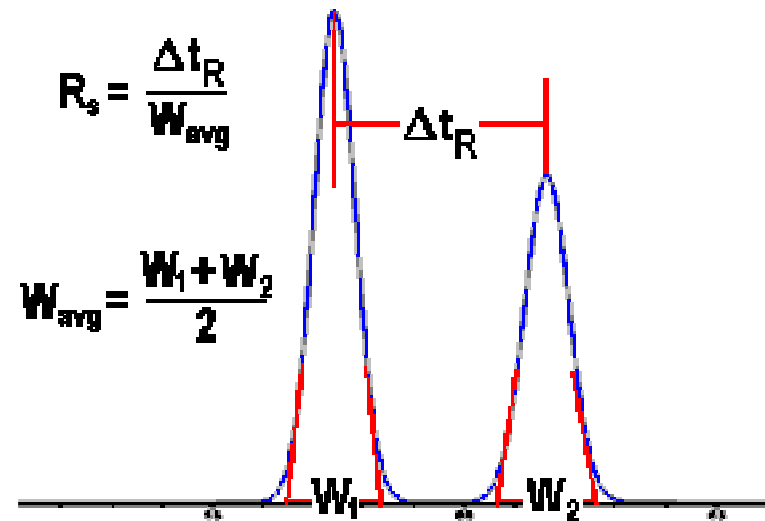
Richtlinie der GTFCh zur  
Qualitätssicherung bei forensisch-  
toxikologischen Untersuchungen,  
[www.gtfch.org](http://www.gtfch.org)

# A kromatográfiás elválasztás

## Felbontás

Kritikus párok esetén az alapvonalai elválasztás haladja meg az **1,5**-ös értéket

$$R_s = 2 \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{W_2 + W_1}$$





# Mintaelőkészítés-I.

## Amfetamin- és katinon-származékok

Vizelet- és vérminta előkészítése: Egy 16 mm átmérőjű kémcsőben 2,5 ml vizelet- vagy vérmintához 20 µl belső standardot (metoxifenamin), 0,25 ml 5 M KOH oldatot, kb. 1 g vízmentes nátrium-szulfátot és 4,2 ml tert.-butil-metil-étert (szerves oldószer) teszünk.

Folyadék-folyadék extrakció (I.): Kirázás 3-szor 10 másodperces rázatással, centrifugálás 20 perc (3000 rpm). Az elkülönülő felső fázist (szerves oldószer) tiszta Vidal-csőbe különítjük el.

Bepárlás: A szerves fázishoz 100 µl metanol-cc. sósav (9:1, v/v) elegyet pipettázunk, majd rotációs vákuum-koncentrátorral szárazra pároljuk be 40 perc alatt, 60 °C-on. *(L. a következő diát is.)*

Folyadék-folyadék extrakció (II.): A száraz maradékhoz 20 µl 5 M KOH-t pipettázunk, majd 100 µl toluollal kirázzuk, majd újabb centrifugálás után a felülúszót szűkítősi fiolába pipettázunk.

# Folyadék-folyadék extrakció amfetamin-származékoknál

A bepárlás metanolos sósav (10 %, v/v) hozzáadása után rotációs vákuumkoncentrátorral történik, 60 °C-on 30 percig, 34 mintás kapacitással.

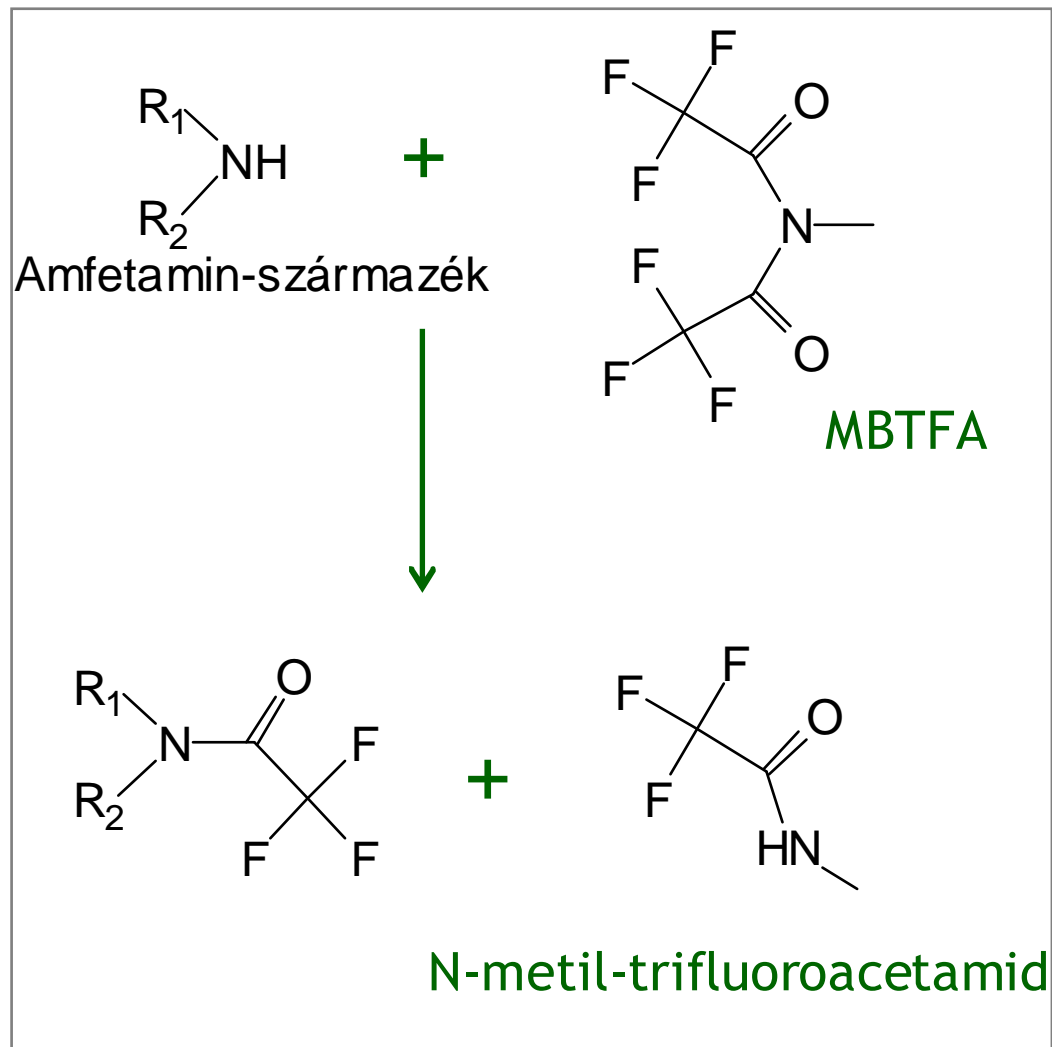


# On-line trifluoroacetilezés Metilén-bisz-trifluoroacetamiddal (MBTFA) való reakcióban



A reakció a GC/MS-készülékbe történő, automatizált injektálással párhuzamosan, az üvegyapottal töltött injektortérben, pillanatszerűen, és gyakorlatilag 100 %-os hatásokkal megy végbe.

Ennek az a feltétele, hogy az MBTFA-t tartalmazó reagenst a mintával egyidejűleg injektálja a fecskendő.



# Mintaelőkészítés-II.

## (alternatív eljárás)

# Amfetamin- és katinon-származékok

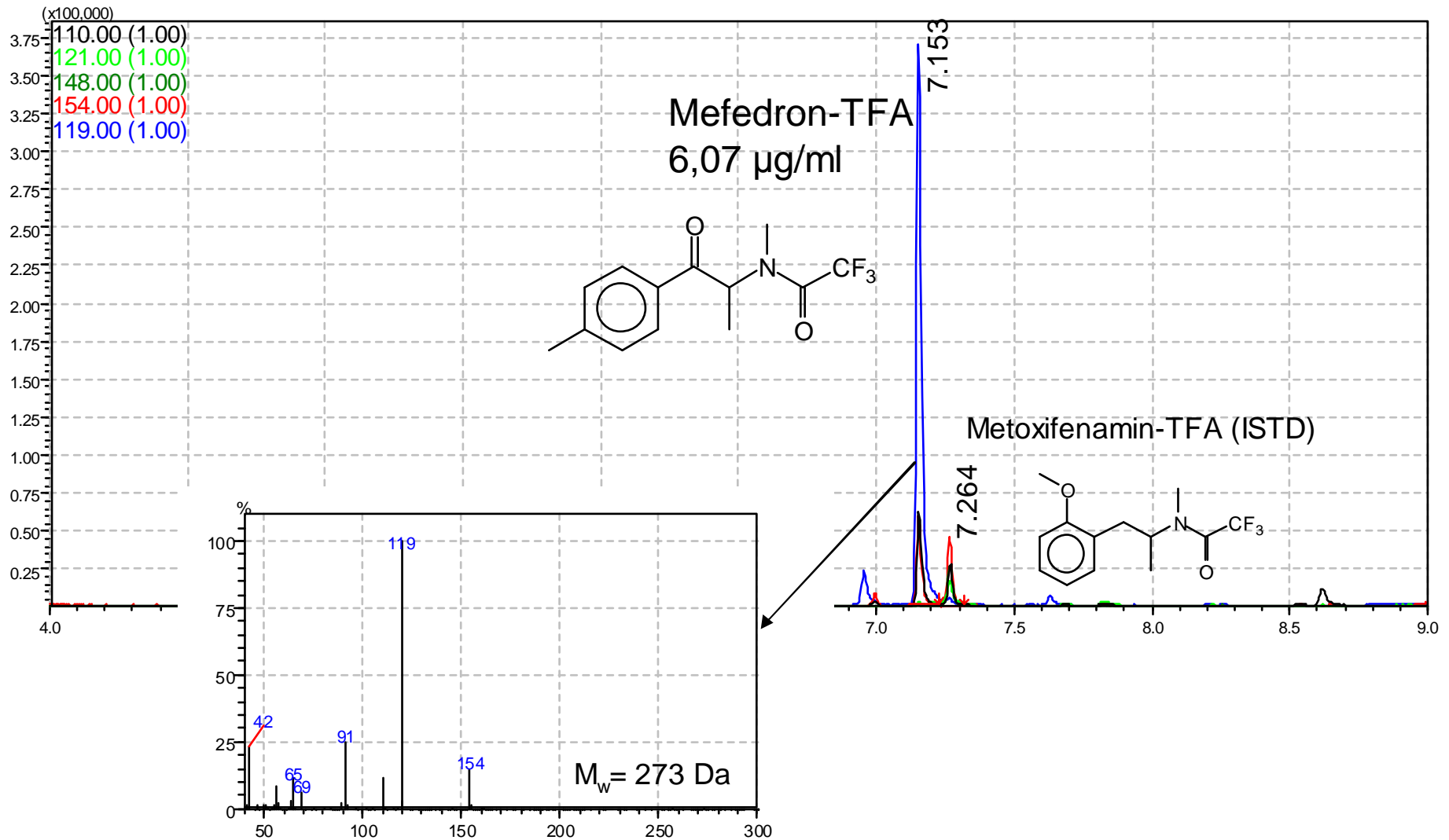
Vizelet- és vérminta előkészítése: Eppendorf-csőben 1 ml vizelethez 100 µl 5 M KOH-oldatot, majd 200 µl toluolt adunk.

Folyadék-folyadék extrakció: A mintákat 15 percig rázatjuk 1200 RPM-en, majd 20 percig centrifugáljuk (8000 RPM). A toluolos fázisból 120 µl-t pipetázunk át megfelelő fiolába.

Származékképzés: A toluolos fázishoz 25 µl **N-metil-bisz(trifluoroacetamidot) (MBTFA)** adunk, majd mintáinkat 20 percig 80 °C-on inkubáljuk, ezután 1 µl-t injektáltunk a GC-MS-készülékbe.

# Mefedron kimutatása-II.

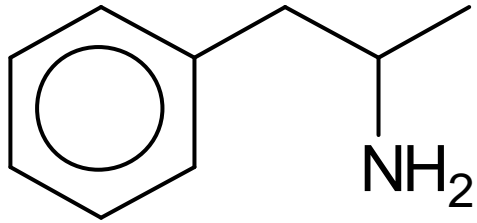
S.I. vizeletmintája, 10-szeres hígítás



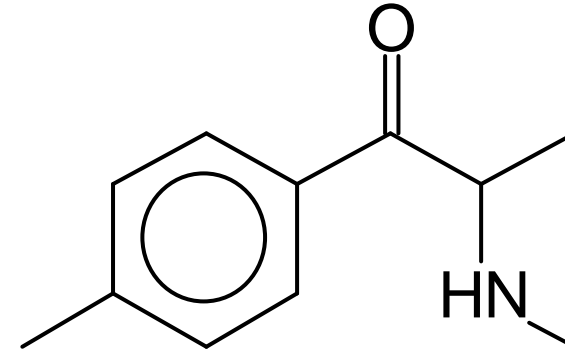
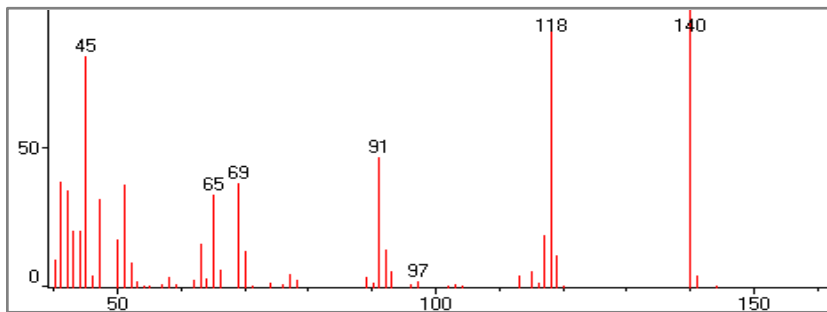
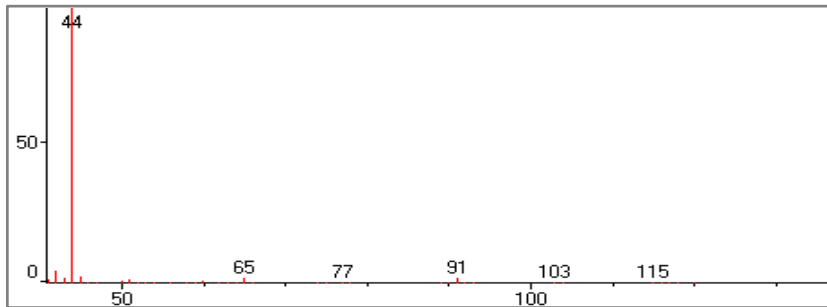
# Kábítószeresek származékolása

Segura et al., 1998

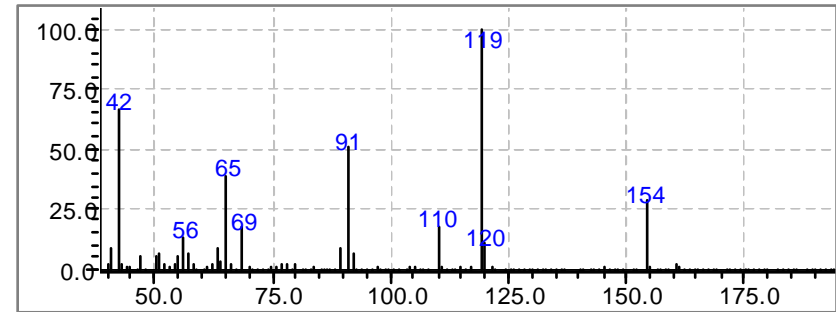
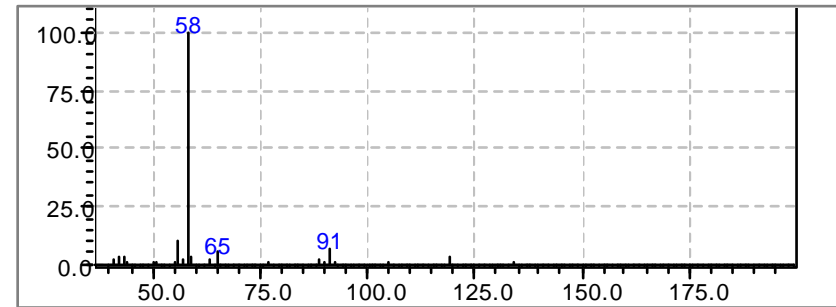
1. **Ópiátok:** szililezés (BSTFA), acilezés (PFPA, HFBA)
2. **Kokain és metabolitjai:** szililezés (BSTFA, MTBSTFA), acilezés (PFPA, HFBA)
3. **Kannabinooidok:** szililezés (MSTFA, BSTFA, MTBSTFA), acilezés (PFPA, HFBA, TFA), metilezés
4. **Amfetaminok:** metil-, propil kloroformát, pentafluoro-oktanoil klorid, szililezés (MTBSTFA), acilezés (HFBA, PAA, AA, PFPA)



# Amfetamin



# Mefedron



# Gázkromatográfiás- tömegspektrometriás jellemzők

- Készülék: Shimadzu QP5000
- Kapilláris kolonna: HP-1MS, 25 m \* 0,2 mm \* 0,33  $\mu$ m
- Injektálás: 1  $\mu$ L minta + 1  $\mu$ L MBTFA, 270 °C, splitless (0,1 perc)  
He-nyomás: 120 kPa
- Kolonnatér-hőmérséklet: 90 °C 1 percig, 20 °C/perc 200 °C-ig,  
30 °C/perc 290 °C-ig, 5 perc
- Interface: 270 °C, ionizáció: EI, detektálás módja: SIM, mintázási  
időköz: 0,18 másodperc

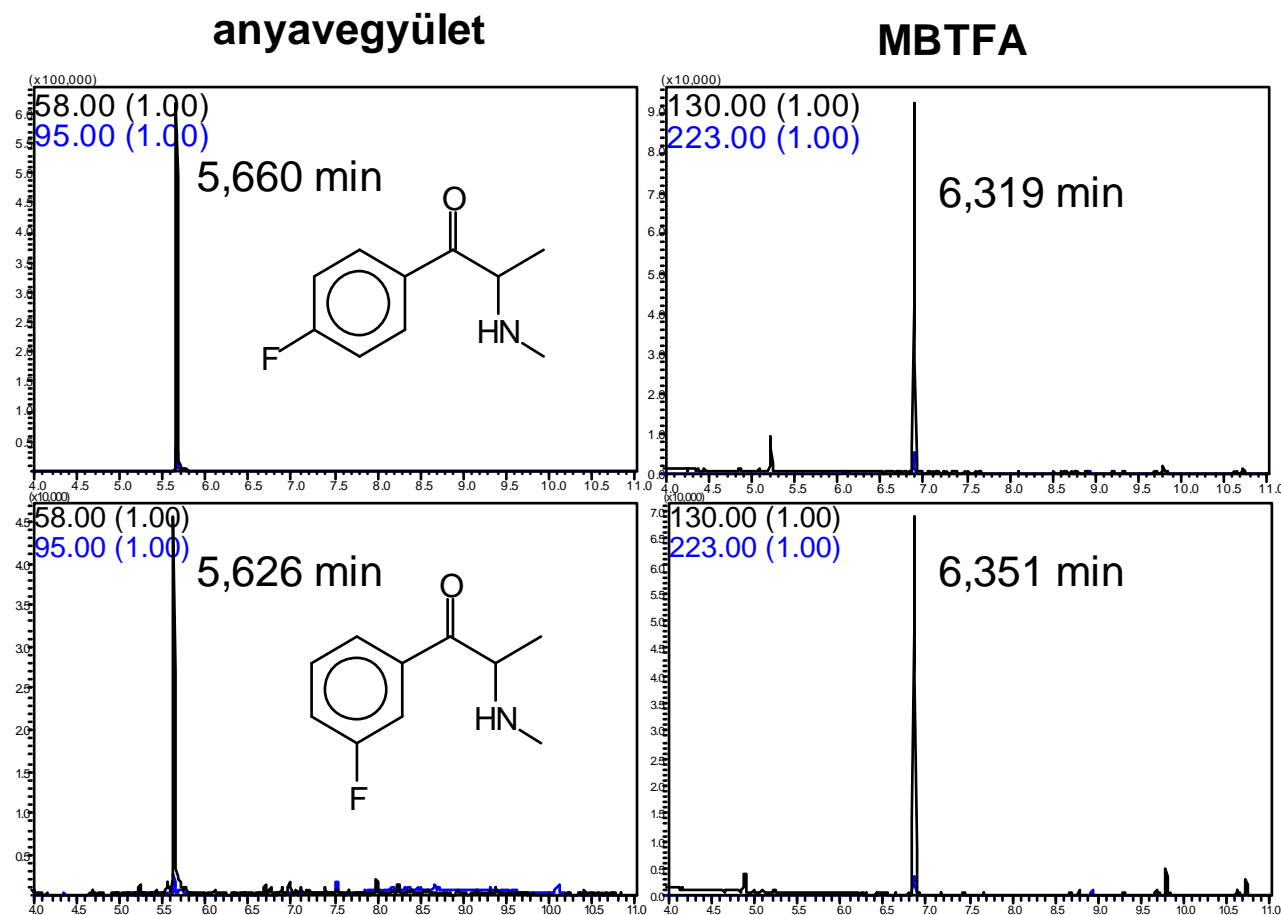




# Új designer-drogok elválasztása HP-1MS kapilláris kolonnán, MIC

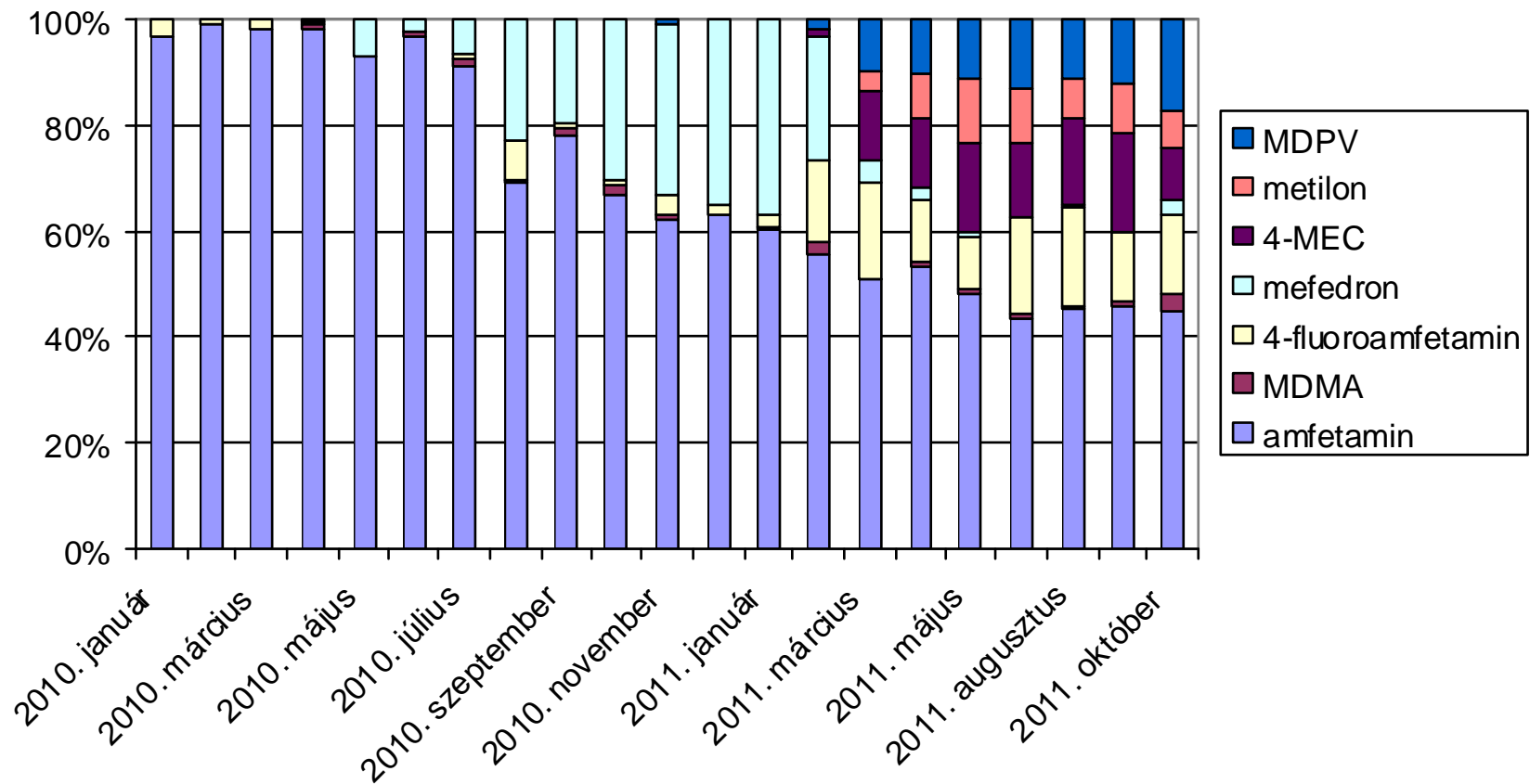
**4-Fluor-  
metkatinon**

**3-Fluor-  
metkatinon**



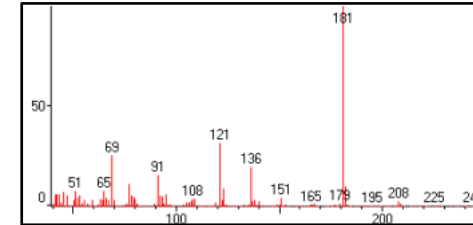
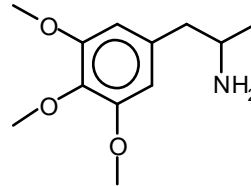
# Új „designer drogok” előfordulása

Fenetilaminok és katinonok előfordulásának aránya  
vizeletmintákban

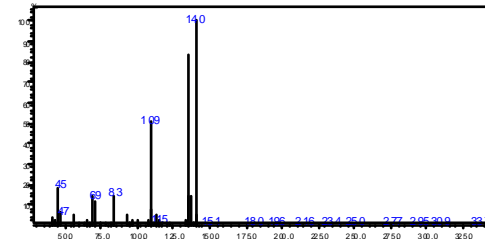
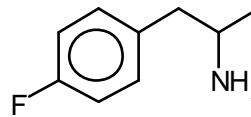


# Vizeletben kimutatott „designer” fenetilaminok-1. (MS TFA-származékként)

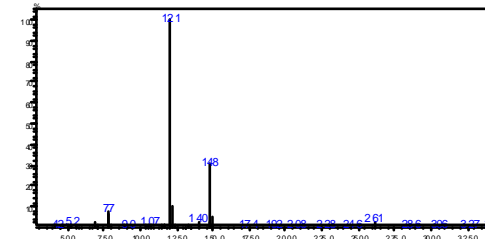
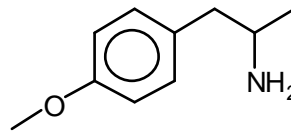
Trimetoxi-amfetamin



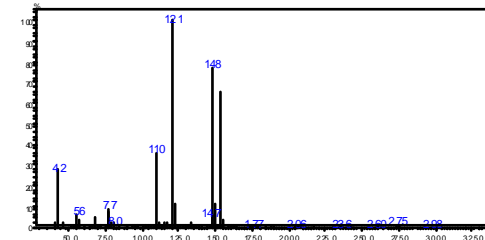
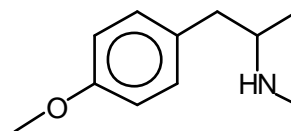
4-Fluor-amfetamin



4-Metoxi-amfetamin

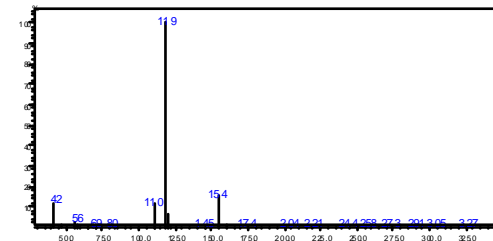
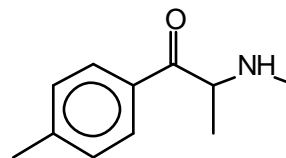


4-Metoxi-metamfetamin

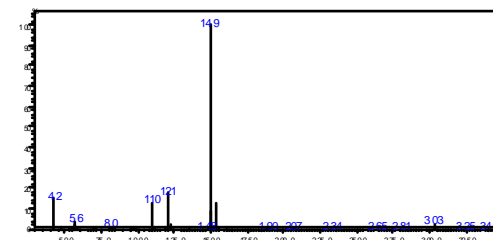
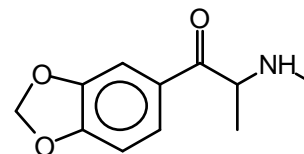


# Vizeletben kimutatott „designer” katinonok-2. (MS TFA-származékként)

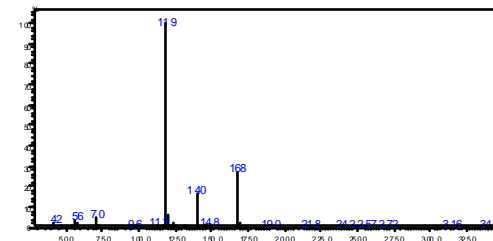
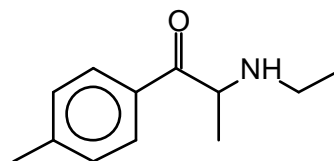
Mefedron



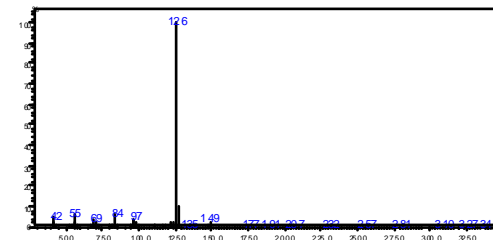
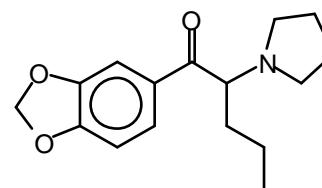
Metilon



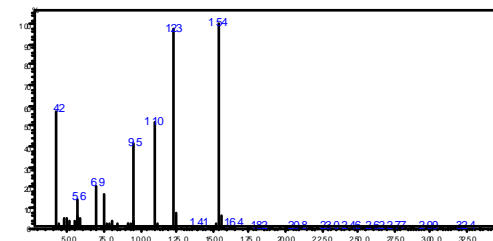
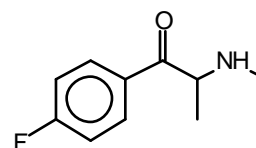
4-Metil-etilkatinon (4-MEC)



Metiléndioxi-pirovaleron (MDPV)

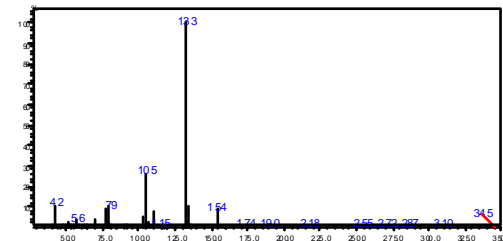
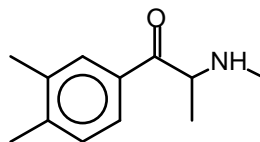


4-Fluor-metkatinon (4-FMC)

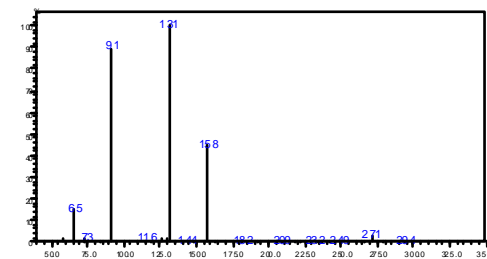
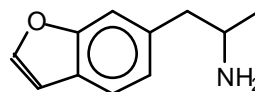


# Vizeletben kimutatott „designer” fenetilaminok, katinonok-3. (MS TFA-származékként)

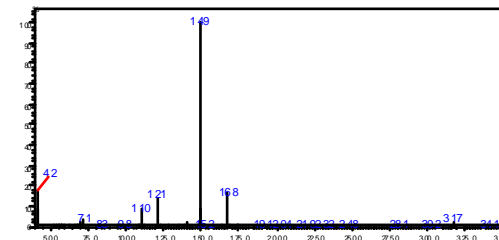
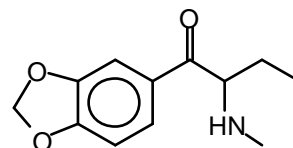
3,4-dimetoxi-metkatinon  
(3,4-DMMC)



6-(2-aminopropil)benzofurán  
(6-APB)

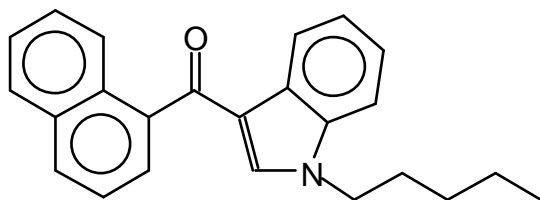


Butilon

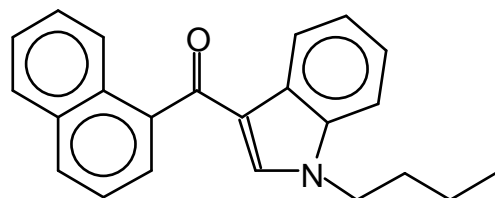
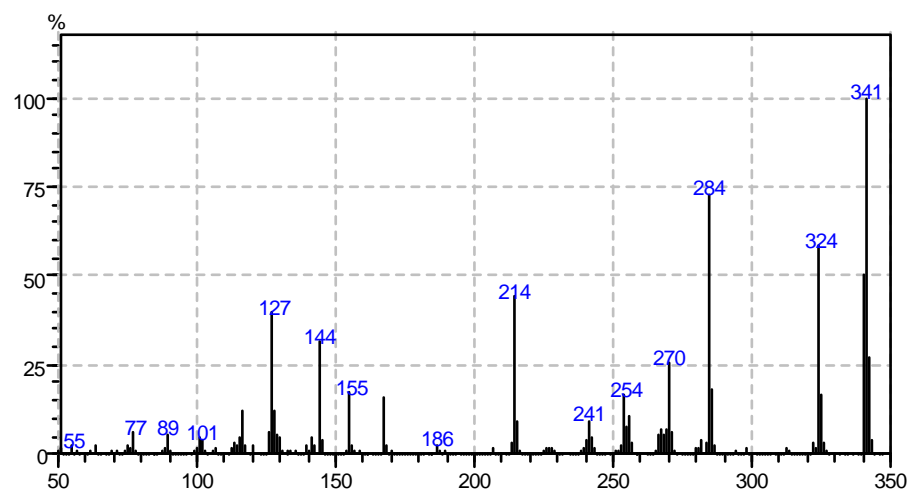


# Szintetikus kannabinoidok-1.

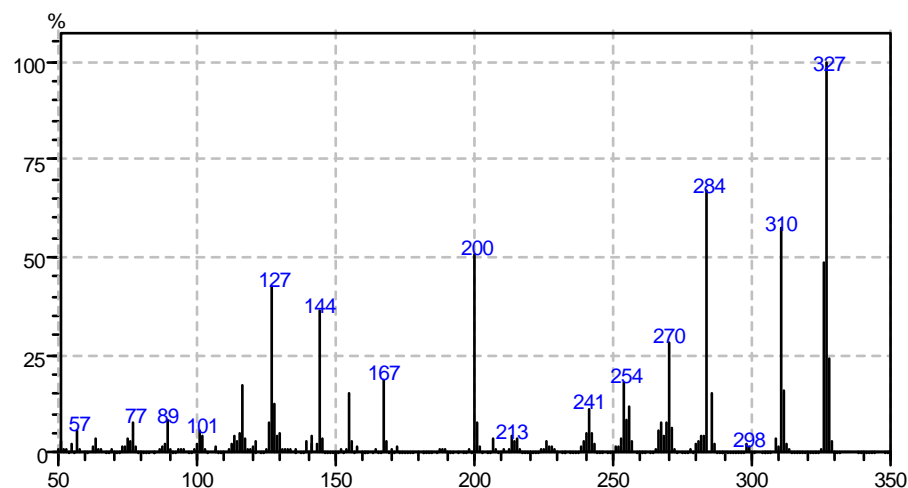
EDND adatbázisban 40 féle.



**JWH-018** (1-pentil-3-(1-naftoil)indol)

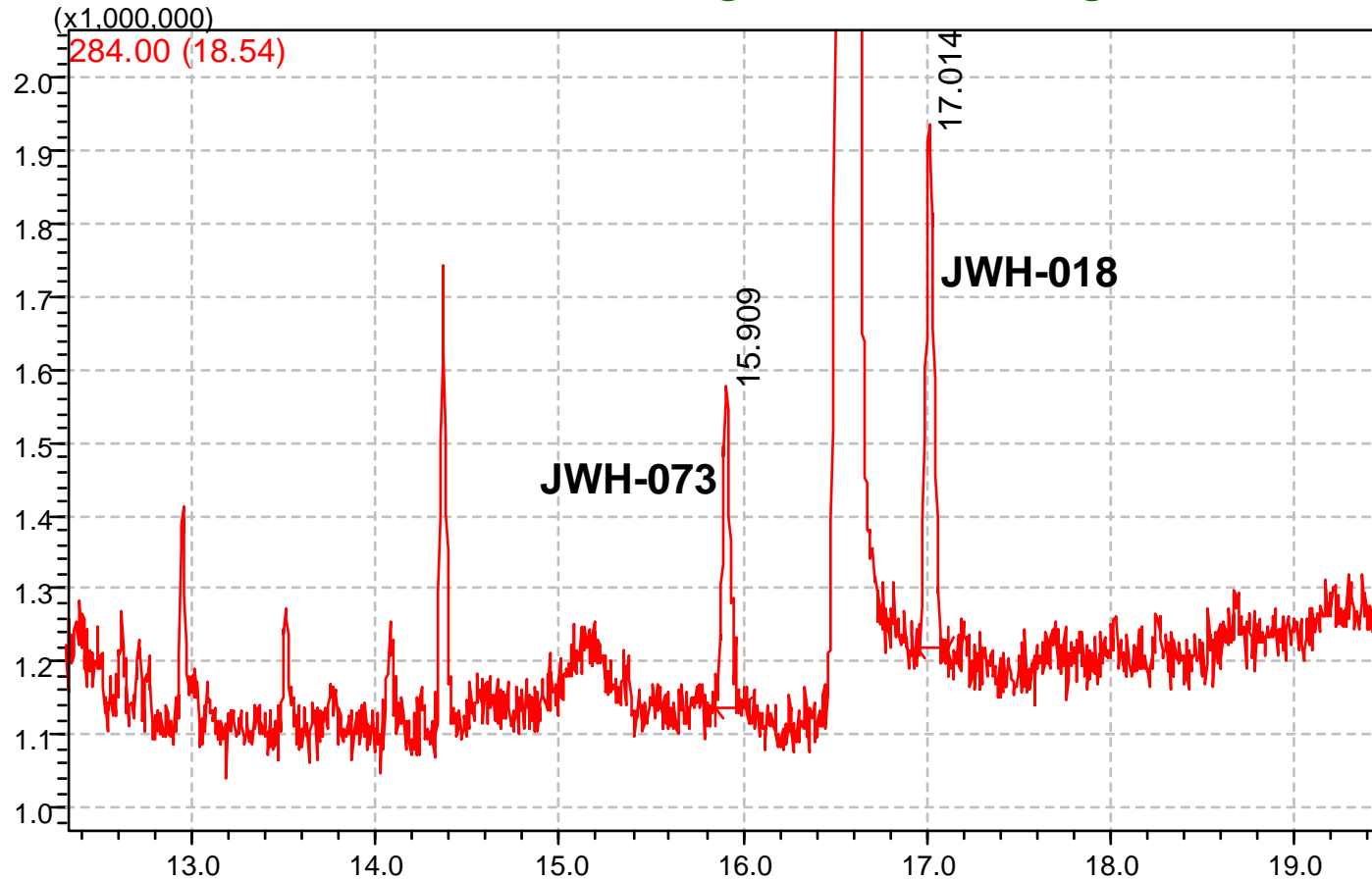


**JWH-073** (1-butil-3-(1-naftoil)indol)



# Szintetikus kannabinoidok-2.

Anyavegyület kimutatása vérszérumban,  
koncentráció: 5 ng/ml-nek megfelelő



Szérumban 50 mg/kg JWH-018 elszívása után 15 perccel 10 ng/ml anyavegyület mérhető a vérben; a koncentráció 3 órán belül 0,5 ng/ml alá esik.  
(ElSohly, J. Anal. Toxicol. 2011.)

# Szintetikus kannabinoidok-3.

## A GC/MS elemzés paramétereit

- Készülék: Shimadzu QP2010Plus
- Kapilláris kolonna: HP-1MS, 25 m \* 0,2 mm \* 0,33 µm
- Injektálás: 2 µL minta, 280 °C, splitless (1 perc)  
Kezdeti He-nyomás: 150 kPa (állandó lineáris sebesség)
- Kolonnatér-hőmérséklet: 90 °C 1 percig, fűtés 20 °C/perccel,  
290 °C 18 percig
- Interface: 280 °C, ionforrás: 280 °C, ionizáció: EI, detektálás módja:  
SIM, mintázási időköz: 0,3 másodperc



# Szintetikus kannabinoidok-4.

Metabolizmusuk intenzív, a vizeletben az anyavegyület nem mutatható ki gyakorlatilag.

(Logan et al., NMS Labs Technical Bulletin, 2011.)

## Kereskedelmi forgalomban kapható metabolitok:

**Table 1:** *Commercially available JWH-018 and JWH-073 monohydroxy metabolites (Cayman Chemical)*

Compound	Metab. ID	Region of Hydroxylation	Compound Name
JWH-018	A	Indole Ring	(2-hydroxy-1-pentyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	B	Indole Ring	(4-hydroxy-1-pentyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	C	Indole Ring	(5-hydroxy-1-pentyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	D	Indole Ring	(6-hydroxy-1-pentyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	E	Indole Ring	(7-hydroxy-1-pentyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	F	Pentyl Side-chain	(1-(5-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	G	Pentyl Side-chain	5-(3-(1-naphthoyl)-1H-indol-1-yl)-pentanoic acid
JWH-073	H	Indole Ring	(2-hydroxy-1-butyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	I	Indole Ring	(4-hydroxy-1-butyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	J	Indole Ring	(5-hydroxy-1-butyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	K	Indole Ring	(6-hydroxy-1-butyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	L	Indole Ring	(7-hydroxy-1-butyl-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	M	Pentyl Side-chain	(1-(4-hydroxybutyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)-methanone
	N	Pentyl Side-chain	4-(3-(1-naphthoyl)-1H-indol-1-yl)-butanoic acid

# Szintetikus kannabinoidok-5.

Metabolizmusuk intenzív, a vizeletben az anyavegyület nem mutatható ki gyakorlatilag.

(Logan et al., NMS Labs Technical Bulletin, 2011.)

Újonnan szintetizált metabolitok:

**Table 2:** Newly synthesized JWH-018 and JWH-073 monohydroxy metabolites (NMS Labs and Cerilliant)

Compound	Metab. ID	Region of Hydroxylation	Compound Name
JWH-018	O*	Pentyl Side-chain	(1-(4-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl(naphthalen-1-yl)-methanone
	P	Pentyl Side-chain	(1-(3-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl(naphthalen-1-yl)-methanone
	Q	Pentyl Side-chain	(1-(2-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl(naphthalen-1-yl)-methanone
JWH-073	R*	Butyl Side-chain	(1-(3-hydroxybutyl)-1H-indol-3-yl(naphthalen-1-yl)-methanone
	S	Butyl Side-chain	(1-(2-hydroxybutyl)-1H-indol-3-yl(naphthalen-1-yl)-methanone
	T	Butyl Side-chain	(1-(1-hydroxybutyl)-1H-indol-3-yl(naphthalen-1-yl)-methanone

# Szintetikus kannabinoidok-6.

Metabolizmusuk intenzív, a vizeletben az anyavegyület nem mutatható ki gyakorlatilag.

(Logan et al., NMS Labs Technical Bulletin, 2011.)

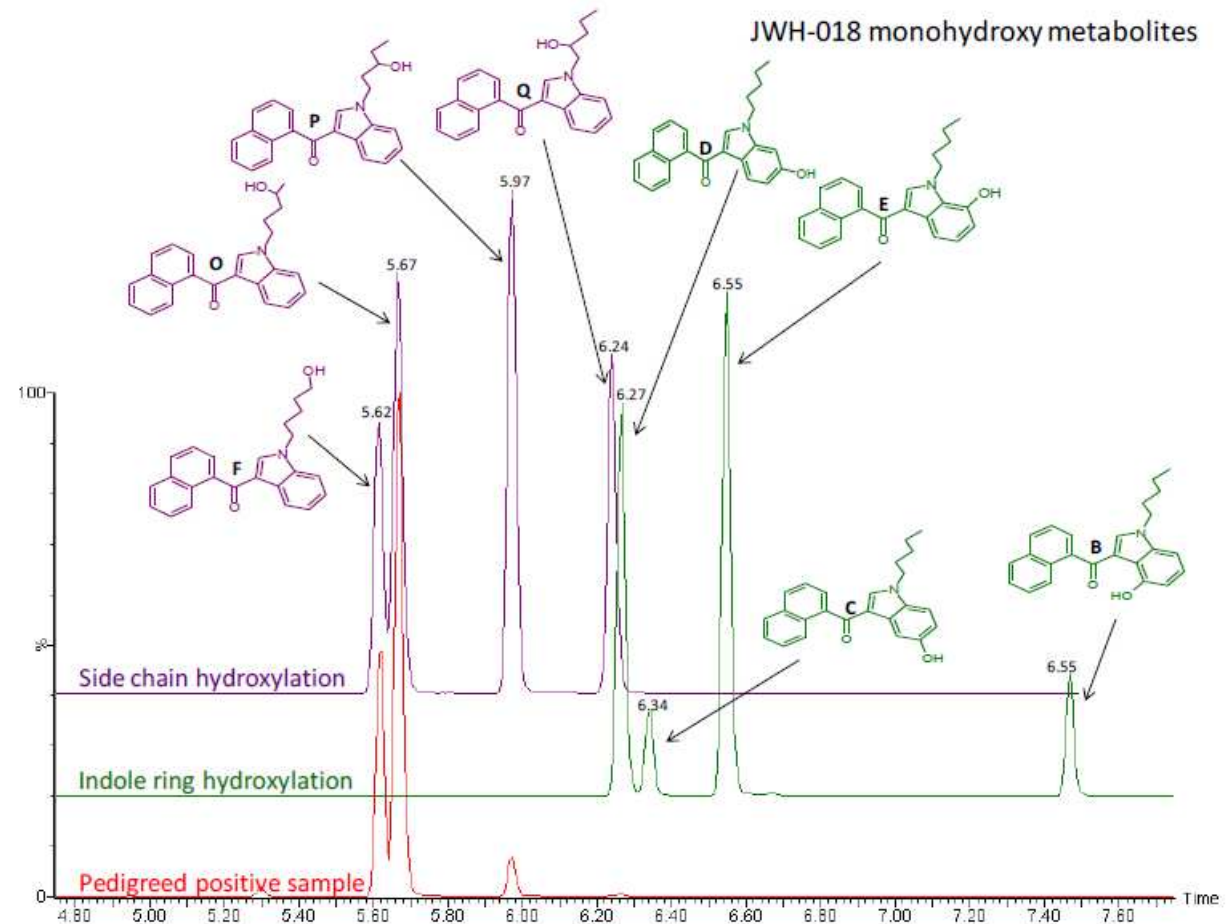
## JWH-018

A monohidroxiláció után:

- di-, és trihidroxiláció,
- karboxiláció,
- dehidráció,
- N-dealkiláció,
- ezek kombinációi.

•Fő metabolit:

N-pentanoát-származék



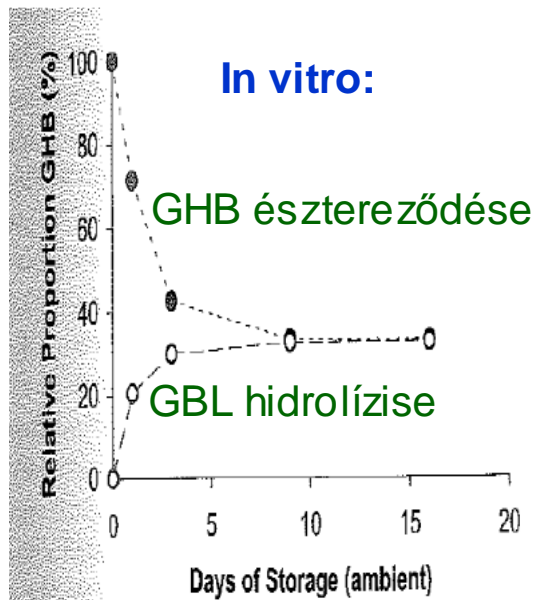


FIG. 4—Hydrolysis of GBL (open circles) and esterification of GHB (filled circles) in pH 2.0 buffer. See text for discussion.

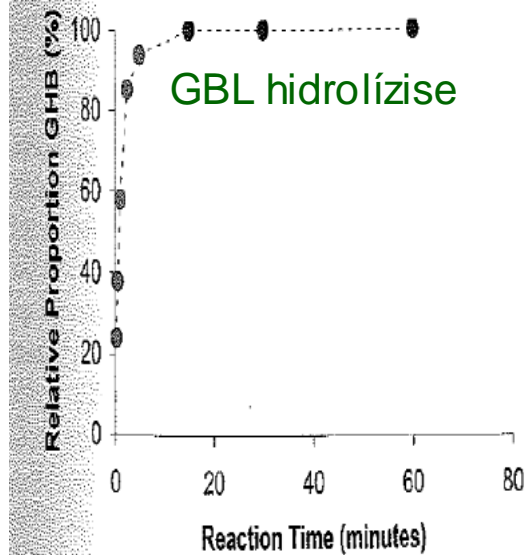
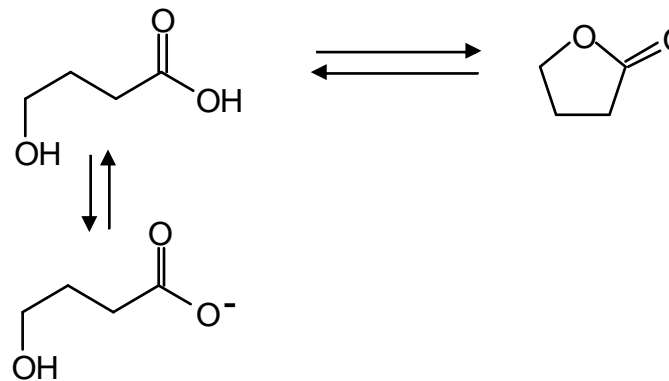


FIG. 5—Formation of GHB from GBL hydrolysis in pH 12.0 buffer.

pH=2

pH=12

# GHB-GBL



- Antemortem GHB-koncentráció (cut off):**
  - Vizelet: 10 µg/ml
  - Vér: 4 µg/ml
- Post mortem** magas lehet (főleg vérben),  
 ui. a GABA, borostyánkősav, putreszcin GHB-vá alakulhat,  
*cut off: 30 µg/ml (vér)*
- GHB-aciduria** (vizeletben 200 µg/ml<)
- Elimináció ált. 8 órán belül

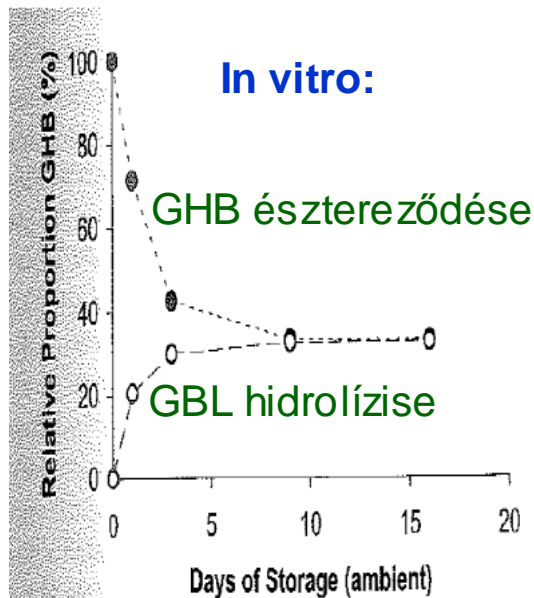


FIG. 4—Hydrolysis of GBL (open circles) and esterification of GHB (filled circles) in pH 2.0 buffer. See text for discussion.

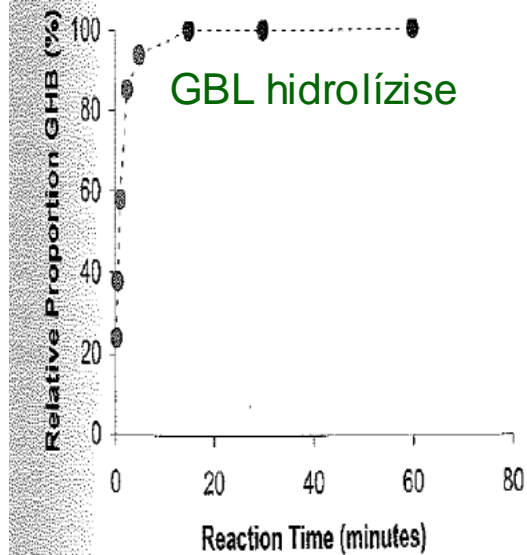
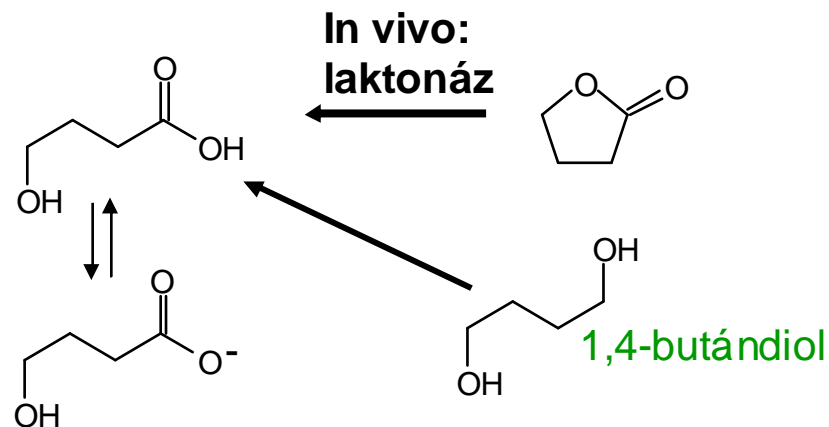


FIG. 5—Formation of GHB from GBL hydrolysis in pH 12.0 buffer.

pH=2

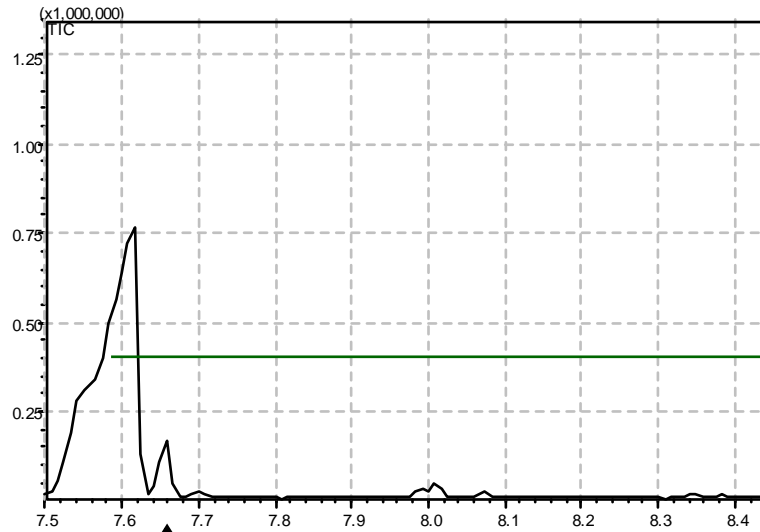
pH=12

# GHB-GBL

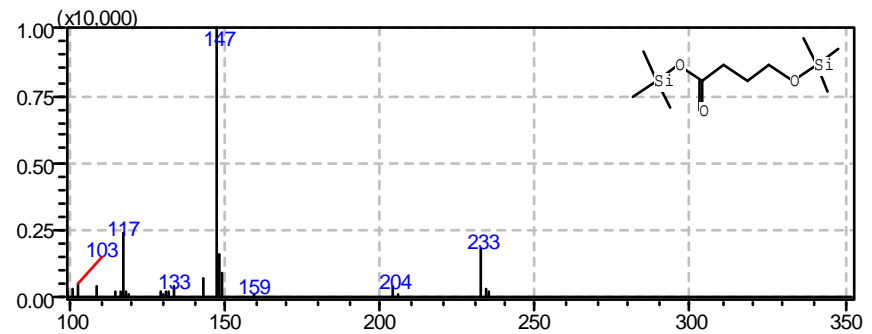
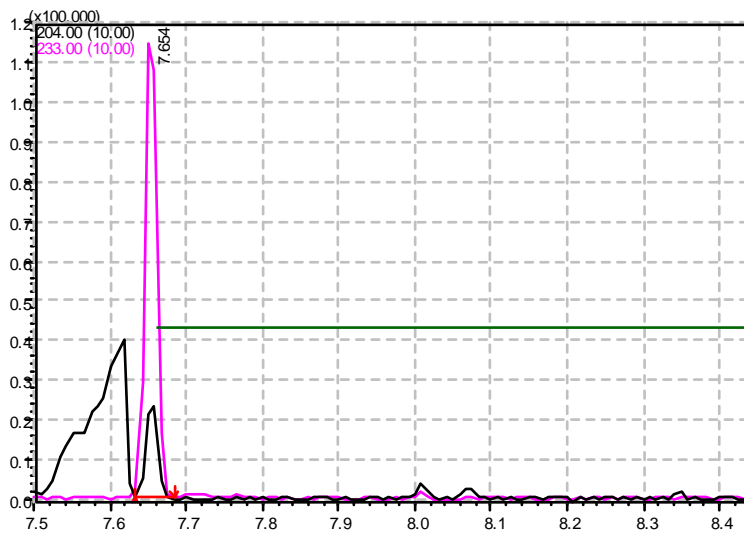
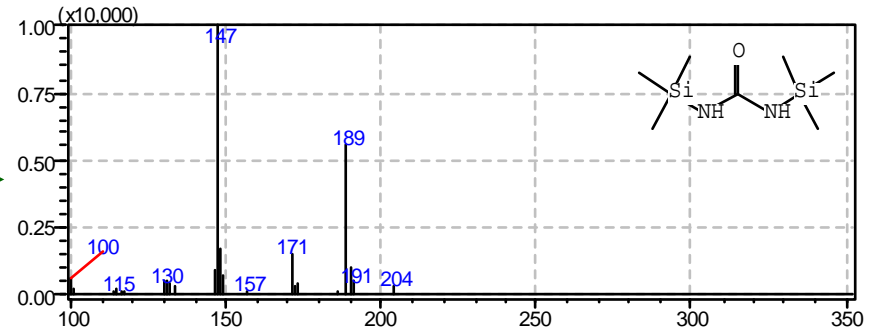


- Antemortem GHB-koncentráció (cut off):**
  - Vizelet: 10 µg/ml
  - Vér: 4 µg/ml
- Post mortem** magas lehet (főleg vérben),  
ui. a GABA, borostyánkősav, putreszcin GHB-vá alakulhat,  
*cut off:* 30 µg/ml (vér)
- GHB-aciduria** (vizeletben 200 µg/ml<)
- Elimináció ált. 8 órán belül

# GHB vizeletben



GHB-2TMS



## Összefoglalás-1.

**Az új designer drogok megjelenése milyen új kihívást jelent?**

**3 lehetséges válasz, ezek nem függenek listára vételtől.**

- 1. szűrővizsgálati spektrum bővítése*
- 2. korszerű, szélesebb spektrumú, vegyületspecifikus, érzékeny analitikai rendszer telepítése (tandem LC/MS rendszerek)*
- 3. meglévő rendszereken új módszer fejlesztése, amellyel az előzményi adatok alapján „véletlenszerűen”, vagy kérés esetén végzünk vizsgálatot*

## Összefoglalás-2.

### Az új szabályozás milyen új kihívást jelent?

1. Az ún. „C lista” hatályba lépése nem biztos, hogy jelentkezik nagyszámú, fogyasztás megállapítására irányuló kirendelésben.
2. Vizsgálati igény esetén a több referencia-anyag, több validálás, ill. több vizsgálat **többletköltséget** jelent.
3. A „generikus definíció” a korábbi analitikai követelményeket nem írja felül: **azonosítás csak referencia-anyag alapján lehetséges.** A referencia-anyagok beszerzésének, ill. a validálásoknak a költségei jelentősen nőnek.



## Összefoglalás-3.

### Jelent-e speciális kihívást egy generikus szabályozás?

1. A „generikus definíció” által megadott vegyületekre „*családspecifikus*” vizsgálat nem létezik.
2. A „generikus definíció” *sok, még nem ismert tulajdonságú vegyületet* takar. Az elemzés kezdeti paramétereinek meghatározása is problémás.
3. A *referencia-anyagok* nagy része *nem*, vagy csak irreális költségek árán *férhető hozzá*. Egy vizsgálati módszer validálása így nem lehetséges.
4. Elvileg a vegyületcsaládra, ill. egy részére elképzelhető *szűrővizsgálat* (MS). Azonban a megerősítéshez szintén referencia-anyag kell, ill. olyan, szerkezetazonosító eljárások, amelyek esetenként ki tudják zárni a mátrix okozta fals pozitivitást és megelőzik a referencia-anyag felesleges beszerzését.