

Biológiai hatású vegyületek és bomlástermékeik szililezése és acilezése hexametil-diszilazánnal és meghatározása GC-MS módszerrel

Doktori értekezés

Fodor Blanka

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



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

Hivatalos bírálók: Dr. Mörthl Mária, Ph.D, osztályvezető
Dr. Alberti-Dér Ágnes, Ph.D, egyetemi docens

Komplex vizsga szakmai bizottsága:

Elnök: Dr. Zelkó Romána, MTA doktora, egyetemi tanár

Tagok: Csörgeiné Dr. Kurin Krisztina, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Órfy László, Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2020

Tartalomjegyzék

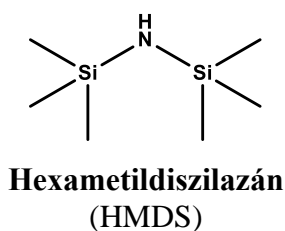
1. Bevezetés	2
2. Célkitűzések	4
3. Módszerek	5
3.1 A vizsgált minták	5
3.2 Alkalmazott eszközök	5
3.2.1 A mintaelőkészítés eszközei	5
3.2.2 A gázkromatográfiás elválasztás és tömegspektrometriás detektálás eszközei és körülményei	6
3.3 Eljárások	7
3.3.1 Modell oldatok	7
3.3.2 A minták előkészítése	8
3.3.3 BCAA előkészítése és az ATE, ETA peptidek bontása savas hidrolízissel	8
3.3.4 A származékká alakítás	9
3.4 A módszerek teljesítményjellemzőinek meghatározása, a kiértékelés módja ...	9
4. Eredmények	11
5. Következtetések	13
6. Saját publikációk jegyzéke Disszertációhoz kapcsolódó közlemények:	14

1. Bevezetés

A.T. James és A.J.P. Martin 1950. október 20-án mutatták be az első gázkromatográfot a Biokémiai Társaság találkozóján. A műszerhez köthető technika, a gázkromatográfia (GC), azóta is a modern elválasztástechnika területének egyik leggyakrabban alkalmazott módszere. Legelőször illékony zsírsavak elválasztására alkalmazták. A későbbiekben sikerült megoldani az '50-es évek legnagyobb analitikai kémiai kihívását jelentő kőolajösszetétel meghatározást. Ezt követően a kőolajipar elképesztő mértékű fejlesztéseket eszközölt a módszerben, aminek köszönhetően egyéb tudományterületek is (pl. biokémia, bioanalitika és élelmiszeranalitika) egyre gyakrabban alkalmazták ezt a technikát. Az igazi áttörés és a mai napig tartó népszerűség az 1980-as éveket követően a kapilláris oszlopok megjelenésének köszönhető.

A GC-MS azonosítási és mennyiségi meghatározások széleskörű elterjedése szükségessé tette a mérések érzékenységének és szelektivitásának folyamatos fejlesztését. A probléma megoldására különféle származékképzési eljárásokat dolgoztak ki. Az elválasztást megelőző, jellemzően „offline” módszerek növelik az egy mérésel elválasztható összetevők számát, az elválasztás hatékonyságát, módosítják a vegyület oszlophoz kötődését, növelik a vegyületek termikus stabilitását, továbbá a molekula illékonyosságát és apoláris jellegét az aktív hidrogén lecserélésével. Ilyen módon a korábban GC-MS módszerrel nem mérhető, poláris és csekély illékonyosságú vegyületek is mérhetővé váltak. A származékképzési technikák közül a trialkilszililezés, acilezés halogénkarbonsav-származékokkal, észterezés, alkilezés, oximálás és a bifunkciós vegyületek gyűrűs származékká alakítása terjedt el.

A trialkilszililezésre gyakran használt színtelen, vízzel nem elegyedő folyadékot, a hexametil-diszilazánt (HMDS) vagy más néven bisz(trimetil-szilil)-amint Sauer és Hasek állították elő trimetil-klór-szilán (TMCS) és ammónia reagáltatásával.



CAS szám: 999-97-3
M = 161,2 g/mol
forráspont: 125 °C
sűrűség: 0,77 g/cm³

1. ábra A hexametil-diszilazán szerkezeti képlete, fizikai és kémiai jellemzői

Brochmann és mtsai az 1960-as évek elején először alkalmazták a HMDS-t szimpatomimetikus aminok trimetilszilil (TMS) származékká alakítására gáz-folyadék kromatográfiás elválasztásukat megelőzően. Napjainkban széles körben használják, önmagában vagy trifluor-ecetsav (TFA) katalizátor jelenlétében, főként szilil-származékok előállítására. Speciális szimmetrikus szerkezete miatt, a megfelelő HMDS:TFA arány megválasztása mellett, primer aminok acilezésére is alkalmas származékképző elegyként 2015-ben alkalmazták először kutatólaborunk munkatársai.

PhD-munkám célja a HMDS származékképző szer hagyományos és új felhasználási módjainak vizsgálata, melyben először egy átfogó tanulmányban a hatékonyságát trimetilszililező reagensként hasonlítom össze más származékképző szerekkel. A kutatás részeként az orvosi célokra és kábítószerként egyaránt gyakran fogyasztott kannabisz hatóanyagainak korábban még nem alkalmazott GC-MS meghatározási lehetőségét tanulmányozom. Új felhasználási területként a HMDS szimmetrikus szerkezetének köszönhető acilező tulajdonságát elemzem és bővítem egyidejű trimetilszililezéssel, aminosav (AS), aminoalkohol (AA), aminocukor (AC), di- és tripeptid, valamint biogén monoamin (BMA) modell vegyületek GC-MS azonosításával és mennyiségi meghatározásával.

2. Célkitűzések

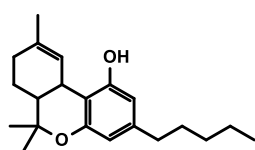
A szakirodalmi előzmények áttanulmányozása után a doktori-munkám célja:

- A kiválasztott kannabinoid (KNBD) vegyületek és bomlástermékeinek átfogó származékképzési tanulmánya, melyben TMS származékká alakításuk optimális reagensét és reakciókörülményeit vizsgálom egy készüléken, azonos kromatográfiás rendszerben.
- A tanulmányban a KNBD-ok származékká alakításához eddig még nem alkalmazott HMDS/TFA reagenspár hatékonyságának összevetése a legnépszerűbb szililező szerekkel (*N,O*-bisz(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid (BSTFA), *N*-metil-*N*-(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid (MSTFA) és *N-terc*-butil-dimetilszilil-*N*-metil-trifluor-acetamid (MTBSTFA)) azonos módon készített modelloldatok vizsgálatával. A katalizátorok szerepének feltárása a reakcióban.
- Növényi minták KNBD-tartalmának GC-MS meghatározása szelektív fragmentum ionok (SFI) alapján közvetlen, extrakció mentes származékképzést követően az optimalizált módszerrel.
- A HMDS, a kutatócsoport korábbi munkájában bemutatott, acilező tulajdonságának vizsgálata, kémiaileg többfunkciós AS-ak és BMA-ok származékká alakítása.
- A termékek tömegspektrometriás viselkedésének feltárása, a SFI-ok azonosítása fragmentumanalitikai tanulmány készítésével.
- A módszer optimalizálása és teljesítményjellemzőinek meghatározása.
- BMA-ok és bomlástermékeiknek elválasztása és együttes meghatározása egyetlen GC-MS méréssel.
- Az eljárás alkalmazása AS-ak és BMA-ok mennyiségi meghatározására anyagcsere és neurológia rendellenességgel diagnosztizált betegek vizelet mintáiban.

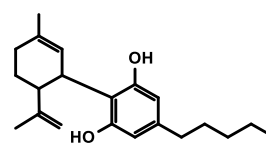
3. Módszerek

3.1 A vizsgált minták

A vizsgált növényi minták, a *C. ruderalis* (C-*rd*) fajba tartozó nőnemű egyedek, Somogy megyében vadon nőttek. Gyűjtésük 2016-ban (C-*rd1*) és 2017-ben (C-*rd2*) virágzaskor történt és felhasználásig az Eötvös Lóránd Tudományegyetem Növény szerkezettani Tanszéke biztosította a tárolásukat. Az elágazó láncú aminosavakat tartalmazó BCAA étrendkiegészítőt az internetről rendeltem. Az „üres” vizelet minta (vizelet1) egészséges női önkétestől származott, az anyagcsere zavarral és neurológiai rendellenességgel (vizelet2-4) diagnosztizált betegek vizelet mintáját a Semmelweis Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézetének Toxikológiai Laboratóriuma (Budapest, Magyarország) biztosította. Az ATE és ETA tizenöt tagú peptideket (az AS-összetételt egybetűs kódokkal jelölve: ETA = KDQYASNVVVGETA, ATE = ATEGVVNSAYQDK) kutatási céllal az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport szintetizálta.



Tetrahidrokannabinol
(THC)



Kannabidiol
(CBD)

2. ábra Kannabisz virágzó hajtása és két fő hatóanyagának szerkezeti képlete

3.2 Alkalmazott eszközök

3.2.1 A minta előkészítés eszközei

A pontos tömegeket $\pm 0,01$ mg pontosságú analitikai mérlegen (Sartorius, Goettingen, Németország) mértem. A standard és minta törzsoldatok elkészítéséhez megfelelő térfogatú mérőlombikokat, a reagensek pontos térfogat méréséhez ± 1 % pontosságú Hamilton (Bonaduz, Svájc) és Trajan (Viktoria, Ausztrália) mikrofecskeket használtam. A vegyületek oldódását szabályozható hőfokú ultrahangos Sonorex (Bandelin electronic, Berlin, Németország) vízfürdővel segítettam. A fagyasztva szárítást

Modulyo liofilizátorral (Jencons, Egyesült Királyság), a centrifugálást Hettich EBA 21 (Tuttlingen, Németország) centrifuga készüléken, a száraz párolást Büchi Rotavapor R-200 (Flawil, Svájc) rotációs vákuumleparlón, a származékképzést fűthető, a reakciócsövekkel azonos méretű fémbetéttel rendelkező, elektronikus melegítőn (Kutesz, Magyarország) végeztem. A vizelet minták pontos térfogatát Biohit Proline (Helsinki, Finnország) 100-1000 µl eldobható hegyű automata pipettával mértem.

3.2.2 A gázkromatográfiás elválasztás és tömegspektrometriás detektálás eszközei és körülményei

A méréseket Varian CP-8400 (Varian, Walnut Creek, USA) automata mintaadagolóval és programozható injektorral felszerelt Varian 450 típusú készüléken végeztem, melyhez Varian 240 MS/MS ioncsapda detektorral ellátott tömegspektrométer csatlakozott. Az KNBD-ok és AS-ak elválasztását 30 m hosszúságú, míg BMA-ok elválasztását 15 m hosszúságú, 0,25 mm átmérőjű és 0,25 µm filmvastagságú Agilent (Victoria, Ausztrália) HP-5MS (5%-fenil-metil-polisziloxán álló fázisú) kapilláris oszlopon végeztem. A vivőgáz 6,0 tisztaságú (99,9999%), 1 ml/perc sebességgel áramoltatott He gáz volt.

A tömegspektrométer működtetésekor az átvezető kapilláris (transfer line) hőfokát 300, az ioncsapdát 210 és a manifoldét 80 °C-ra állítottam. Az ionizációs feszültség 70 eV, a filament áramerőssége 25 µA, a teljes ionszám (TIC) 20000 beütés, az előpásztázási idő 1500 µs volt. Az adatokat gyors üzemmódban (0,59 s/scan) gyűjtöttem. Az elektronsokszorozó feszültségének beállításánál az automatikus kalibráció (auto tune) által beállított értéket +100 V-tal növeltem. A detektort a mérések során teljes pásztázás (FS) üzemmódban, m/z 50-1000 tartományban működtettem. A készülék optimális paramétereit a Varian MS Workstation 6.9. szoftverrel ellenőriztem és vezéreltem, az injektor és kolonnatér hőfokszabályozásának adatait a 1. táblázatban foglaltam össze.

1. táblázat A GC-MS készülék injektorának és kolonnaterének felfűtése, az adatgyűjtés késleltetése az elúciós program alatt

Célvegyület	Injektor		Kolonnatér			Adatgyűjtés késleltetése, perc
	Hőfok, °C	Idő, perc	Hőfok, °C	Felfűtés sebessége, °C/perc	Hőfok tartása, perc	
KNBD	A program hossza: 13 perc (TBDMS esetén 20 perc)					
	300	4,00	100	-	-	3,00
			300	20	- (7)	
AS, AA, AC, DiAHA és kis tagszámú peptidek	A program hossza: 20,20 perc					
	280	3,00	100	-	1,00	2,00
			145	10	-	
			195	5	1,00	
			280	50	2,00	
BMA és metabolitjaik	A program hossza: 19,35 perc					
	280	3,00	100	-	1,00	5,00
			145	10	-	
			195	5	1,00	
			280	100	2,00	

3.3 Eljárások

3.3.1 Modell oldatok

Az analitikai tisztaságú standard modell vegyületekből 0,1-10 mg/ml-es törzsoldatokat készítettem metanol (KNBD), 2 M (AS, AA, AC, DiAHA és kis tagszámú peptidek) illetve 0,25 mM-os sósavval (BMA és metabolitjaik) 5-10 ml-es mérőlombikban. A törzsoldatokhoz a bemérést $\pm 0,01$ mg pontossággal végeztem. A vizsgálatok előtt 10-500-szoros koncentrációra hígítottam az oldatokat a megfelelő oldószerrel. A hígított törzsoldatok 3-100 μ l térfogatát mikrofecskendővel 2 ml térfogatú, a rotációs vákuumbepárlóhoz illeszkedő, reakciócsövekbe mértem és 30-40 °C-os vízfürdön, vákuum segítségével tömegállandóságig szárítottam. A szárazra párolt mintákat aprotikus szerves oldószerbe [piridin (PYR), etil-acetát (ETAC), acetonitril (ACN)] oldottam, majd származékká alakítottam. A törzsoldatok fel nem használt részét a következő mérésig hűtőben (2-8 °C-on) tároltam.

3.3.2 A minták előkészítése

A 2016-ban és 2017-ben gyűjtött *C. ruderalis* virágos hajtását és leveleit (C-*rd1*, C-*rd2*) liofilizátorban fagyasztva szárítottam, majd néhány grammját achátmozsárban finomra porítottam. A minta 0,5-2,0 mg-os részleteit $\pm 0,001$ mg pontossággal 2 ml-es reakciócsövekbe mértem és extrakció nélkül, közvetlenül trimetilszilil (TMS) származékokká alakítottam. A vizelet mintákat a kísérletek elvégzéséig 10 ml-es műanyag centrifugacsövekben fagyasztóban $-20-25$ °C-on tároltam. Felengedés után centrifugáltam (6000 rpm, 10 perc) és a tiszta felúszó 100-300 μ l-ét automata pipettával a korábban említett reakciócsövekbe pipettáztam majd vízfürdőn szárazra pároltam.

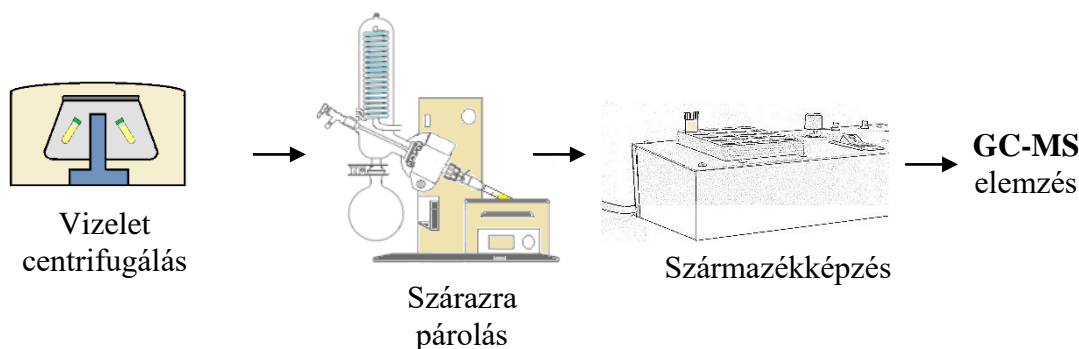
A minták célvegyület-tartalmát, a visszanyerést és az LOQ értékeket standard addícióval határoztam meg. A vizelet automata pipettával kimért részletéhez a csavarmentes reakciócsövekbe mikrofecskendővel adtam a hígított modelloldatok számított részletét, majd az elegyet vákuumbepárlással szárítottam $30-40$ °C hőfokú vízfürdőt alkalmazva. Az elporított kendermintákat a beszárított modelloldathoz mértem analitikai pontossággal és ezt követően a mátrix jelenlétében származékká alakítottam.

3.3.3 BCAA előkészítése és az ATE, ETA peptidek bontása savas hidrolízissel

A BCAA étrendkiegészítő analitikai pontossággal mért részletét 2 M-os sósavban oldottam. Az ATE és ETA szintetikus peptidek 910 és 900 μ g-ját 6 M-os sósavban 105 °C-on lezárt ampullában 24 órán keresztül hidrolizáltam. A hidrolizátumokat 2 M-os sósavval kvantitatívan 5 ml-es mérőlombikba mostam és törzsoldatot készítettem. A mintákból mikrofecskendővel vettem ki a szükséges térfogatot, amit szárazra párlást követően származékká alakítottam. Az étrendkiegészítő pontos AS-tartalmát standard addíciót követően határoztam meg. Ez esetben a BCAA-törzsoldat pontosan mért részletéhez adtam az AS standard oldatok megfelelő részleteit, majd az egyesített folyadék részleteket együtt szárítottam tömegállandóságig és reagáltattam a származékképző reagenssel.

3.3.4 A származékká alakítás

A vákuumbepárló segítségével vízmentesített mintákat aprotikus szerves oldószerrel (Pyr, EtAc, ACN) oldottam, majd hozzáadtam a származékképző reagenseket. Az oldószer és a reagensek arányát kutatócsoportunk korábbi tapasztalataira alapozva választottam. A trimetilszililezést 375 μ l, az egylépéses acilezést és szililezést (4. ábra) 200 μ l összterefogatban készítettem. Az optimalizáláskor alkalmazott reakcióidőt (10 – 120 perc) és -hőfokot (60 – 100 °C) között változtattam. A melegítést követően az oldatokat szobahőfokra hűtöttem. A KNBD TMS-származékokat hígítatlanul injektáltam, az AS, AA, AC, DiAHA, kis tagszámú peptidek és BMA-TMS-acil származékokból a származékképző reagenssel 10-20-szoros hígítást készítettem. A hígított mintákat szűkítővel ellátott GC-s mintatartó edénybe helyeztem és 1 μ l-t injektáltam. A származékká alakítást párhuzamos bemérésekkel végeztem és minden mintát háromszor injektáltam.



3. ábra A vizelet minták előkészítésének főbb lépései

3.4 A módszerek teljesítményjellemzőinek meghatározása, a kiértékelés módja

A specifikusságot és szelektivitást „vak” (a reagenseket tartalmazó oldat a mintaelőkészítési eljárásnak megfelelően kezelve) oldat injektálásával igazoltam; vizelet mérésekor egészséges önkéntestől származó „üres” mintát is mértem referenciaként. A célvegyületek retenciójánál más zavaró csúcs egyik esetben sem jelent meg a kromatogramon és a tömegspektrumban.

A kidolgozott módszerek linearitását standard oldatokkal vizsgáltam. A kalibráló oldatok pontos koncentrációját az egyenes felvételekor az analitikai pontosságú bemérésekre, továbbá HCl-sóknál a bázisra vonatkoztatva számítottam. A bepárolt oldatrészleteket az optimális körülményeken alakítottam származékká. A származékképzést követően a KNBD-mintákat hígítás nélkül, az AS, az AC, az AA és a DiAHA származékokat hússzoros, a BMA-akat és metabolitjaikat tízszeres hígítást követően injektáltam. A hígítást minden esetben a származékképző reagenssel készítettem.

Az LOQ értékeket empirikus úton határoztam meg. A kalibráció azon pontját választottam LOQ-nak, amelynél teljesült, a jel/zaj (S/N) > 10. A módszer reprodukálhatóságát a párhuzamos mintaelőkészítésekkel és injektálásokkal vizsgáltam.

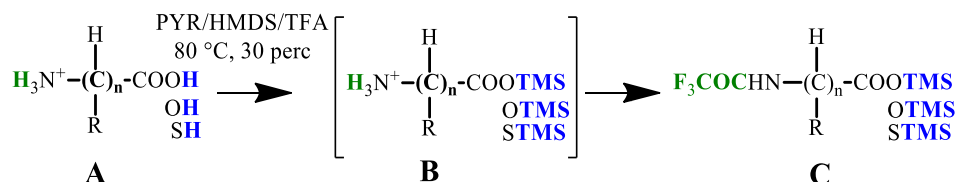
Mátrix jelenlétében a linearitást standard addícióval tanulmányoztam és a vizsgált tartományt a minta célvegyület-tartalmához igazítottam. A visszanyerés értékét az azonos koncentrációjú standard oldatok válaszjeléhez viszonyítottan számoltam.

A mérések adatait teljes pásztázás üzemmódban rögzítettem, a kiértékeléshez az SFI-ok alapján extrahált kromatogramokat használtam. A csúcs alatti területek szoftveres integrálásával határoztam meg a válaszjeleket.

4. Eredmények

Kutatásom első lépéseként átfogó származékképzési tanulmányt készítettem, melyben a legismertebb szililező reagensz (HMDS, BSTFA, MSTFA és MTBSTFA) és katalizátorok hatását vizsgáltam növényi KNBD-ok származékképzésére, azonos kromatográfias rendszerben, a semleges és savas vegyületek egyidejű mennyiségi mérésekor. A vegyületek elválasztására egy gyors, mindösszesen tizenhárom perces programot használtam. A HMDS és a TFA, amelyeket eddig még nem használtak a KNBD-k származékká alakításához, ideális választásnak bizonyultak. Az optimalizált módszert kis hatóanyagtartalmú növényi minták KNBD-tartalmának meghatározására alkalmaztam.

A HMDS és a perfluorkarbonsav párok egyedi reakcióképességén alapuló új szelektív és kvantitatív analitikai eljárást mutattam be, amely az AS-ak, az AA-ok, az AmGI, a DiAHA, a kis tagszámú peptidek és a BMA-ok teljes származékká alakítását egyetlen lépésben extrakció nélkül biztosítja.



4. ábra Többfunkciós vegyületek egyidejű trimetilszililezésének és trifluoracilezésének feltételezett sorrendisége az aminosavak példáján bemutatva

A módszert BCAA étrendkiegészítő AS-tartalmának meghatározására és neurológiai vagy anyagcsere betegséggel diagnosztizált páciensek vizeletének elemzésére hasznosítottam. Vizsgáltam a mintaelőkészítés és GC-MS meghatározás arányosság különböző kiindulás térfogatú BCAA oldat és vizelet származékká alakításával, melynek során a biológia mintákból egyidejűleg 3-5 AS koncentrációját határoztam meg.

A reagenspár perfluorkarbonsav tagjának optimalizálásával elválasztottam a BMA-okat savas metabolitjaiktól. A módszer gyakorlati alkalmazhatóságát a célvegyületek-tartalmának meghatározásával igazoltam standard addícióval mátrix jelenlétében. Mértem neurológia rendellenességgel diagnosztizált betegek vizeletének VMA-tartalmát

három különböző kiindulás térfogatú mintából, továbbá ST koncentrációját nagy feleslegű 5-HIAA metabolit jelenlétében.

A HMDS hagyományos és új felhasználási területeinek vizsgálatokor részletes fragmentumanalitikai tanulmányt készítettem. A mintaelőkészítést optimalizáltam és főbb teljesítményjellemzőit meghatároztam standard oldattal és mátrix jelenlétében is.

Felismertem az oldószer jelentőségét a törzsoldatkészítésben. Új mintagyűjtési protokoll bevezetésére tettem javaslatot. A kidolgozott módszerek alkalmazásával elkerülhető a célvegyületek vesztesége (idő- és munkaigényes extrakciós lépések nélkül alkalmazható), ami gyors, szelektív, érzékeny, idő-, munka-, költség- és oldószer-hatékony munkastratégiát eredményez a zöld kémiai követelményeknek megfelelően.

5. Következtetések

Új mintaelőkészítési technikákat dolgoztam ki a biológiailag aktív vegyületek, a KNBD-ok, az AS-ak és a BMA-ok HMDS-sel képzett származékaiknak GC-MS meghatározásához.

- Először alkalmaztam HMDS-t a KNBD-ok trimetilszilil származékokká alakítására, a módszert optimalizáltam. Egy rövid, tizenhárom perces programban választottam el öt növényi KNBD-ot és a két fő metabolitot. **(I, II)**
- A HMDS acilező tulajdonságát perfluorkarbonsav jelenlétében, melyet kutatócsoportunk ismert fel, bővítettem egyidejű szililezéssel. A módszerrel elsőként alakítottam az AS-akat, az AA-okat, a DiAHA-t, a kis tagszámú peptidek és a BMA-okat egy lépésben egységes acilezett-szililezett származékokká, melyek szerkezetét tömegspektrumokkal igazoltam. **(III, IV)**
- A perfluorkarbonsav optimalizálásával először alkalmaztam egylépéses acilezést és szililezést a BMA-ok és savas metabolitjaik elválasztására, valamint szelektív, közvetlen kvantitatív meghatározására, egyetlen GC-MS felvételtől. **(IV)**
- A HMDS hagyományos és új felhasználási területéhez kapcsolódó módszerekhez részletes fragmentumanalitikai tanulmányt készítettem. A kidolgozott mintaelőkészítési eljárások főbb analitikai teljesítmény-jellemzőit mind a modelloldatokban, mind a vizeletmátrixokban meghatároztam. **(II, III, IV)**
- Az extrakció nélküli származékképzés gyakorlati használhatóságát közvetlen mintakészítési technikával igazoltam. A szárított növényi szövetek KNBD-tartalmát, az étrendkiegészítő, valamint a vizelet AA- és BMA-koncentrációját a mátrix jelenlétében mértem.

A szakirodalomban javasolt időigényes, savas és semleges frakciókat külön gyűjtő eljárást egyszerűsítettem, a KNBD-okat, AS-akat és BMA-okat mátrixaik jelenlétében alakítottam származékká GC-MS meghatározásukat megelőzően a zöld kémia követelményeinek megfelelően minimálisra csökkentve az alkalmazott szerves reagensek felhasználását. **(II, III, IV)**

6. Saját publikációk jegyzéke

Disszertációhoz kapcsolódó közlemények:

Fodor, B., Molnar-Perl, I. (2017) The role of derivatization techniques in the analysis of plant cannabinoids by gas chromatography mass spectrometry. *Trends Anal. Chem.*, 95: 149-158. **(I)**

Fodor, B., Boldizsár, I., Molnár-Perl, I. (2018) Alkylsilyl speciation and direct sample preparation of plant cannabinoids prior to their analysis by GC-MS. *Anal. Chim Acta*, 1021: 51-59. **(II)**

Fodor, B., A. Csampai, Molnar-Perl, I. (2020) Hexamethyldisilazane and perfluorocarboxylic acid couples achieve trialkylsilylation and acylation of active proton containing organics in a single step. *Microchem J.*, 154: 104554 **(III)**

Fodor, B., Üveges, E., Molnár-Perl, I. (2020) Direct sample preparation and simultaneous perfluoroacylation - Trimethylsilylation of biogenic monoamines along with their acidic metabolites for a single step analysis by GC-MS. *Anal. Chim. Acta*, 1127: 9-19. **(IV)**

Egyéb közlemények:

Zürn, M., Tóth, G., Kraszni, M., Sólyomváry, A., Mucsi, Z., Deme, R., Rózsa, B., **Fodor, B.**, Molnár-Perl, I., Horváti, K., Bősze, Sz., Pályi, B., Kis, Z., Béni, Sz., Noszál, B., Boldizsár, I., (2019) Galls of European Fraxinus trees as new and abundant sources of valuable phenylethanoid and coumarin glycosides. *Ind. Crops Prod.*, 139: 111517

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.**, Csámpai, A., Hidvégi, E., Molnár-Perl, I., (2016) Structure-related new approach in the gas chromatography/mass spectrometry analysis of cathinone type synthetic drugs. *J. Chromatogr. A*, 1477: 70-75.

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.