

**Egy- és kétdimenziós LC-MS kapcsolt technikák
bioanalitikai, lipidomikai és metabolomikai
alkalmazása**

PHD ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Körmöczi Tímea

Témavezető

Dr. Berkecz Róbert
egyetemi adjunktus



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Kémia Doktori Iskola

GYTK Gyógyszeranalitikai Intézet és SZAOK Orvosi Vegytani Intézet

SZEGED

2022

1. Bevezetés és célkitűzés

A **bioanalitika** az analitika biológiai minták analízisével foglalkozó tudományterülete, amely komplex folyamat, ami nem csak az analitikai mérést jelenti, hanem magába foglalja a felvetett biológiai kérdés megválaszolásához szükséges analitikai módszer megtervezését, a mintavételt, a mintaelőkészítést, a módszerfejlesztést, szükség esetén a validálást, az analitikai mérés végrehajtását és legvégül a kapott adatok kiértékelését és értelmezését.

Biológiai minták analízise során a vizsgált vegyületek forrásukat tekintve egyrésztől lehetnek a vizsgált szervezetben természetes módon jelenlévő anyagok azaz endogének, másrésztől a környezetből valamilyen módon bejutott vagy bejuttatott vegyületek (exogének), amelyek különböző biokémiai folyamatokban vesznek részt és alakulnak át.

Az „omikák” (*omics*) tudományterülete a biológiai molekulák egy csoportjának együttes vizsgálatát célozza meg, annak érdekében, hogy az egyes komponensek közötti összefüggések rendszerszintű megértése lehetővé váljon. Az omikákon belül megkülönböztetünk az örökítőanyag összességével foglalkozó genomikát, az RNS-sel és a gének átírásával foglalkozó transzkriptomikát, a transzláció során képződő fehérjéket vizsgáló proteomikát és az anyagcsere kis molekulatömegű termékeivel, azaz a metabolitokkal valamint azok útvonalával foglalkozó **metabolomikát**. A **lipidomika**, melyet gyakran a metabolomika részeként említene, a sejtekben, szövetekben és biológiai folyadékokban található lipidek összességével foglalkozik.

Napjainkban a **folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriás (LC-MS)** módszerek széles körű elterjedése figyelhető meg a gyógyszerkutatás (farmakológiai, farmakokinetikai vizsgálatok, hatóanyag kutatás, metabolizmus és toxikológia), az igazságügy, az élelmiszeripar, a népegészségügy, az orvos-biológiai kutatások (genomika, transzkriptomika, proteomika, metabolomika, biomarkerkutatás), az orvos-diagnosztika vagy akár a környezetvédelem bioanalitikai területein. Az **egydimenziós folyadékkromatográfia** az egyik legjelentősebb elválasztási technika az összetett biológiai mátrixok vizsgálatánál. A komplex minták metabolomikai, lipidomikai vagy proteomikai mérése során a nagyszámú komponensek koelúciója megnehezíthetik azok minőségi és mennyiségi meghatározását. Ezekre megoldást nyújthat az offline vagy online **kétdimenziós folyadékkromatográfias (2D-LC)** módszerek alkalmazása.

Munkánk során célul tűztük ki egy- és kétdimenziós LC-MS bioanalitikai módszerek kifejlesztését és alkalmazását orvos-biológiai kérdések megválaszolására analitikai megközelítéssel.

A szorongásos rendellenességek a legelterjedtebb betegségek közé tartoznak, kialakulásuk a mai napig nem teljesen ismert. A lipidek meghatározó szerepet játszanak a neurális folyamatokban, ezért az agy lipid összetétele jelentősen befolyásolja a szubjektív érzékelést, a hangulatot és a viselkedést. Ezért célul tűztük ki a szorongó és nem-szorongó egértörzsek vérplazma és agymintáinak foszfolipid (glicerofoszfoszfátid és szfingofoszfolipid) szintjének vizsgálatát. A vérplazma glicerofoszfoszfátid és szfingofoszfolipid összetételét hidrofíli kölcsönhatási folyadékkromatográfiával kapcsolt nagy felbontású tömegspektrometriás (HILIC-HRMS) módszerrel határoztuk meg. A korábbi kutatási eredmények rámutattak a prefrontális kéreg, a dorzális- és a ventrális hippokampusz agyterületek érintettségére a szorongásos megbetegedések kialakulásában. Ezért vizsgálataink erre a három agyterületre terjedtek ki. Az agy komplex összetétele miatt, egy új, online átfogó 2D-LC-HRMS módszer kidolgozásával terveztük a szorongó és nem szorongó egerek különböző agyi régióinak glicerofoszfoszfátid és szfingofoszfolipid összetételének tanulmányozását.

A dimetiltriptamin (DMT) egy indol alkaloid vegyület, amely természetes módon megtalálható növényekben és állatokban. Az endogén DMT szintézise az emlősökben a triptofán dekarboxilezésével kezdődik, amely során triptamin keletkezik. Ezt egy metilációs lépés követi, amelyet egy metiltranszferáz enzim, pl. indoletilamin-*N*-metiltranszferáz (INMT) végez. A második enzimatis metabolizációval a metiltriptaminból DMT keletkezik. Az INMT számos szövetben termelődik, így arra következtethetünk, ahol INMT enzim található ott endogén DMT is. Az INMT legnagyobb mennyiségben tüdőben, mellékvesében, pajzsmirigyben és az agyban termelődik. A szomatikus sejtek által termelt DMT-ről kiderült, hogy oxidatív stressz hatására vagy oxigénhiányos körülmények között a koncentrációja megnő. A kísérleti állatokba beadott nagyobb mennyiségű DMT csökkentette az agyi infarktus kialakulását. Céljaink között szerepelt az intravénás infúzióval bejutatott exogén DMT, iszkémiás körülmények során bekövetkező koncentrációjának nyomonkövetése patkány agy- és vérplazmamintákban. A mennyiségi meghatározáshoz egy gyors, célzott kétdimenziós folyadékkromatográfiával kapcsolt, nagy felbontású tandem tömegspektrometriás (2D-LC-HRMS/MS) módszer dolgozzunk ki.

A szintetikus kannabinoidok a dizájner drogok legnagyobb csoportja. Megjelenésük a feketepiacon napról napra változik, ezért azonosításuk, illetve a fogyasztás tényének megállapítása kiemelten fontos feladat az igazságügy és a toxikológia területén. Napjainkban fontos törekvés, hogy a szintetikus kannabinoidok gyors metabolizációja miatt az anyamolekulák mellett azok karakterisztikus metabolitjait is vizsgálni kell. A metil-2-(1-(4-fluorobutil)-1H-indol-3-karboxamido)-3,3-dimetilbutanoát (4F-MDMB-BICA) az egyik legújabb szintetikus kannabinoid, melyet Magyarországon a rendőrség 2020. augusztus 11-ig 51 különböző lefoglalásban azonosított és fogyasztásukhoz összesen 11 haláleleset köthető, azóta ez a szám jelentősen megnövekedett. Munkánk során célul tűztük ki a 4F-MDMB-BICA I. fázisú reakciók során keletkezett metabolitjainak azonosítását az anyamolekula humán májmikroszómás kezelését követően (*in vitro*), és a rendőrség által lefoglalt vizelet- és vérmintákból (*in vivo*). További célunk között szerepelt, a meglévő célzott rutin igazságügyi folyadék-kromatográfiával kapcsolt kis felbontású tömegspektrometriás (UHPLC-MS/MS) analitikai módszer kibővítése a kiválasztott karakterisztikus I. fázisú anyagcsere során keletkezett metabolitokkal. Abból a célból, hogy a 4F-MDMB-BICA használatát igazolni tudjuk azokban az esetekben is, amikor az anyamolekula szintje mind a vérben, mind a vizeletben a kimutatási határ alá csökkent.

2. Felhasznált anyagok és vizsgálati módszerek

Munkám során a négy különböző bioanalitikai módszerhez, külön-külön dolgoztunk ki folyadék-folyadék extrakciós mintaelőkészítési eljárásokat. A kísérletek során alkalmazott biológiai minták a következők voltak: egér vérplazma és egéragy, patkány vérplazma és patkányagy, humán májmikroszóma, humán vér és humán vizelet. A módszerfejlesztés során több fordított fázisú és HILIC kromatográfiás oszlopot teszteltünk a kromatográfiás és a tömegspektrometriás paraméterek optimalizálása mellett.

Az analitikai mérések két LC-MS rendszeren történtek:

- UHPLC-HRMS/MS rendszer: Waters Acquity I-Class UPLC (Waters, Manchester, Egyesült Királyság) UHPLC készülék, amely egy Thermo Scientific Q Exactive Plus Hybrid Quadrupol-Orbitrap (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) tömegspektrométerrel van összekapcsolva

- UHPLC-MS/MS rendszer: Shimadzu Nexera (Kiotó, Japán) UHPLC rendszer egy TSQ Fortis hármass kvadrupól (Thermo Scientific, Waltham, USA) tömegspektrométerhez kapcsolva.

Az adatok gyűjtése Xcalibur szoftverrel (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) történt. Az átfogó lipidomikai és metabolomikai mérések során a kapott adatok bioinformatikai feldolgozását a Progenesis QI 2.1 (Nonlinear Dynamics, Newcastle, Egyesült Királyság) végeztük. A lipid specieszek azonosítása a LIPID MAPS lipidomikai és a saját foszfolipid adatbázisunkkal történt. A normalizált adatok ortogonális részleges legkisebb négyzetek diszkriminációs analízisét a SIMCA 14.1 szoftverrel (Umetrics, Umea, Svédország) végeztük. A statisztikai t-próbához a GraphPad Prism 5 statisztikai szoftvert (GraphPad Software Inc., La Jolla, USA) használtuk. A félig célzott metabolomikai mérésekkel a lehetséges szerkezet azonosításokat manuálisan végeztük el az Xcalibur szoftver Qual Browser programjának segítségével. A célzott mérések mennyiségi kiértékeléséhez az Xcalibur szoftverbe integrált kiértékelő programot használtunk.

3. Új tudományos eredmények

T1. Általunk kidolgozott HILIC-HRMS analitikai módszerrel igazoltuk, hogy a szorongó és nem szorongó egerek vérplazma glicerofoszfamid és szfingofoszfamid összetételében szignifikáns különbség van.

A szorongó és nem szorongó egértörzsek kitenyésztésével lehetőség nyílik a szorongásos megbetegedés molekuláris szintű tanulmányozására. A szorongásos megbetegedés egérmodelljénél feltételeztük, hogy szignifikáns különbség van a szorongó és nem szorongó egerek vérplazma foszfolipid összetételében. A feltevés igazolásához egy gyors átfogó HILIC-HRMS módszert fejlesztettünk ki, amellyel összesen 10 lipid osztályt lefedő 130 foszfolipidet sikerült mennyiségileg meghatározni egérplazmából. A 8 szorongó és 8 nem szorongó egér vérplazma foszfolipid összetételének összehasonlításakor, a szorongó egerek csoportjában a foszfatidil-kolin (PC), foszfatidil-inozitol (PI), lizo-foszfatidil-etanolamin (LPE) és szfingomielin (SM) osztályok összkoncentrációjában jelentős eltérést figyeltünk meg. Az egyes specieszek vérplazma koncentrációjának vizsgálatakor, a szorongó egerek esetében 33 foszfolipidnél emelkedett szintet, és mindössze a PC 38:4 és a PC 42:6 esetében

figyeltünk meg csökkenést. A legnagyobb eltérést a PI 32:1, PI 36:5, LPE 16:1 és LPE 20:5 esetében kaptuk a két egértörzs összehasonlításakor.

A foszfolipidspecieszek nevezéktana a kétbetűs rövidítésen, a molekulában helyet foglaló zsírsavlánc(ok) hossza és a kettős kötések száma alapján történik. Például a PC 38:4 esetén egy olyan foszfatidil-kolin osztályba tartozó molekuláról beszélünk, amely négy darab kettős kötést tartalmaz a zsírsavláncon és a két zsírsavban összesen 38 szénatom található.

T2. A kifejlesztett online átfogó 2D-UHPLC-HRMS analitikai módszerrel megállapítottuk, hogy a szorongó és nem szorongó egerek három agyterületének foszfolipid összetételében szignifikáns különbség van.

Az állatkísérleteknek köszönhetően sikerült feltérképezni a neurális pályarendszert, amely kapcsolatba hozható a szorongással. Kutatásunk során szorongó és nem szorongó egerek három agyterületének (a dorzális hippokampusz, a ventrális hippokampusz és a prefrontális kéreg) foszfolipid összetételét határoztuk meg egy újszerű, átfogó online 2D-UHPLC-HRMS kapcsolt technikával. A 2D rendszerünkben a HILIC és a fordított fázisú folyadékkromatográfiás elválasztás online összekapcsolása két fordított fázisú csapdaoszlopon keresztül történt. Így a mérés során párhuzamosan történt a HILIC effluentben eluálódó foszfolipidek dúsítása az egyik csapda oszlopon és a már csapdázott foszfolipidek második dimenzióban történő fordított fázisú elválasztása és HRMS detektálása. A 2D mérés során az első dimenzióban a lipid osztályok HILIC elválasztása a foszfolipidek fejcsoportja alapján történik, addig párhuzamosan a második dimenzióban az azonos lipidosztályhoz tartozó specieszek fordított fázisú elválasztása a lipidek zsírsavlánc hosszán valamint a kettős kötések számán és elhelyezkedésén alapul. A 40 perces mérés során 151 foszfolipidet azonosítottunk 8 szorongó és 9 nem szorongó egértörzs három agyterületének vizsgálatakor. Legjobb tudomásunk szerint ez az első alkalom, hogy a szorongásos betegségek egérmodelljében a különböző agyi régiók glicerofoszfatid és szfingofoszfolipid szintek változásáról számoltak be. A többváltozós statisztikai elemzést követően 37 foszfolipid speciesz mutatott jelentős eltérést a két csoport három agyterületének összehasonlításakor. Ezek közül 20-at azonosítottunk a ventrális hippokampuszban, 6-ot a dorzális hippokampuszban és 11-et a prefrontális kéregben. A vizsgált három agyrégióban egységesen a PE 40:5 mutatott szignifikáns különbséget a két egértörzs összehasonlításakor.

T3. Endogén és exogén dimetiltriptamin (DMT) koncentrációjának hatékonyabb meghatározása patkány agyban és plazmában egy új, célzott 2D-UHPLC-HRMS/MS módszerrel.

A szomatikus sejtek által termelt DMT-ről kiderült, hogy oxidatív stressz hatására vagy oxigénhiányos állapotban (hipoxia) koncentrációja megnő. A DMT feltételezett idegsejteket védő hatását agyi és vese iszkémia modellekben alkalmazták. Kutatásunk során az intravénás infúzióval bejutatott DMT agyi hipoxia során fellépő neuroprotektív hatásának vizsgálatakor az exogén DMT koncentráció változást követtük nyomon. A HILIC és a fordított fázisú kromatográfia ortogonális összekapcsolásával, fordított fázisú csapdaoszlop és HRMS/MS detektálás segítségével egy érzékeny és szelektív analitikai módszert dolgoztunk ki, melyet később sikeresen alkalmaztunk exogén DMT mennyiségi meghatározására plazmában és agyszövetben. A módszerfejlesztés során kidolgozott új folyadék-folyadék extrakciós mintaelőkészítés és a 2D-LC-HRMS/MS módszer alkalmazásával, az irodalmi adatokkal összevetve, kisebb mintamennyiség felhasználásával jobb kimutatási határt értünk el. Az új mintaelőkészítési módszer további előnye, hogy a visszanyerés hatékonysága a DMT-re nézve 20-30%-kal jobbnak bizonyult, mint az irodalomban fellelhető módszerek esetén meghatározott értékek. A kapott kedvezőbb mátrixhatás értékek egyértelműen jelzik a mintaelőkészítés és a kétdimenziós elválasztás előnyét. A szakirodalomban leírt eddigi egydimenziós módszerekhez képest rövidebb, mindössze 10 perces teljes analízis idejű módszert fejlesztettünk ki. A kidolgozott bioanalitikai módszer további előnye, hogy a belső standardként használt α -metiltriptamin, a második dimenzióban azonos retenciós idővel eluálódott a DMT-vel, így a detektálás során mind a két vegyület esetében a mérés során fellépő mátrixhatás azonos mértékű volt. A kapott mennyiségi mérési eredmények alapján megállapítottuk, hogy a DMT kezelés hatására az oxigénhiányos állapot fellépése után az DMT koncentrációja a vérplazmában csökkent, és a kezelés hatására a DMT mennyisége megnőtt az agyban. A kísérletek során nem tudtuk megerősíteni az endogén DMT jelenlétét sem az agyban sem a plazmában. Az elért eredmények alapján elmondható, hogy az új analitikai módszert sikeresen alkalmaztuk kísérleti állatok terápiás céllal beadott DMT koncentrációjának meghatározására patkány plazmában és agyban.

T4. A 4F-MDMB-BICA legújabb szintetikus kannabinoid metabolitjainak leírása *in vitro* humán májmikroszómában, *in vivo* humán vér- és vizeletmintában egy komplex analitikai megközelítéssel, amely átfogó LC-HRMS, félig célzott LC-HRMS/MS és célzott LC-MS/MS analitikai módszerekből állt.

A dizájner drogok fekete piaca gyorsan változik, így az újonnan megjelent szintetikus kannabinoidok mielőbbi azonosítása és mennyiségi meghatározása a fogyasztás tényének megállapításához elengedhetetlen. A szintetikus kannabinoidok gyors metabolizációjának eredményeként sok esetben a fogyasztásuk beismerése ellenére nem sikerült azonosítani az anyamolekulákat sem vér- sem pedig vizeletmintákban. A munkánk során a 2020-ban Magyarországon megjelent 4F-MDMB-BICA szintetikus kannabinoid I. fázisú átalakulások metabolitjainak azonosítását tűztük ki célul. Kutatásunk során új analitikai megközelítést alkalmaztunk a metabolitok meghatározására, mely egy átfogó LC-HRMS, félig célzott LC-HRMS/MS és egy célzott rutin LC-MS/MS analitikai módszerekből épült fel. Az *in vitro* minták átfogó LC-HRMS mérése során kapott adatokat a Progenesis QI program segítségével dekonvolváltuk. A feldolgozott HRMS adatok statisztikai kiértékelésével azonosítottuk a májmikroszómás kezelés során képződő új vegyületeket. A lehetséges I. fázisú metabolitok szerkezeti igazolásához félig célzott LC-HRMS/MS módszert alkalmaztunk *in vitro* és *in vivo* minták esetében. A lehetséges szerkezetek meghatározásához a HRMS/MS spektrumokat manuálisan értékeltük ki, amely az anyamolekula fragmentációján, valamint az irodalomban leírt hasonló szerkezetű szintetikus kannabinoidok fragmentációs mechanizmusán alapult. Az új megközelítéssel elsőként sikerült leírni a 4F-MDMB-BICA *in vitro* és *in vivo* I. fázisú reakciók során keletkezett metabolitjait. Az I. fázisú anyagcsere során a 4F-MDMB-BICA négy fő szerkezeti elemén, a magon, a farkon, a kapcsoló és kapcsolt csoporton számos biotranszformációt azonosítottunk, úgy mint az észter hidrolízis, dealkilezés, oxidatív defluorozás, dehidrogénezés, egyszeres és kétszeres hidroxilezés, amidhidrolízis, karboxilezés és ezek kombinációja. Az igazságügyi gyakorlatban általánosan elfogadott, hogy a vizsgált célvegyület két karakterisztikus metabolitja elegendő az adott vegyülettel való visszaélés igazolására. Így a munkánk a humán vizelet és vérminták félig célzott LC-HRMS/MS mérése során kapott eredmények alapján mind a két testfolyadék elsődleges biomarkereként az észterhidrolízis metabolitot választottuk ki. A további megerősítéshez másodlagos karakterisztikus metabolitoként, a vizeletben a mono-hidroxilált, míg vérben az észter hidrolizált+dehidrogénezett metabolikus termékeket jelöltük ki.

T5. A 4F-MDMB-BICA fogyasztásának igazolására a karakterisztikus metabolitok mérését átültettük a már meglévő célzott LC-MS/MS módszerünkbe.

A már meglévő UHPLC-MS/MS igazságügyi analitikai módszerünket továbbfejlesztettük, hogy alkalmas legyen a 4F-MDMB-BICA szintetikus kannabinoid anyamolekula mennyiségi és a kiválasztott karakterisztikus metabolitok minőségi meghatározására vizelet- és vérmintákból. A 6 perces analízis során 32 vizsgált szintetikus kannabinoid (anyamolekula és metabolitok) célionjai és kísérőionjai mellé igazítottuk a 4F-MDMB-BICA anyamolekula és a három kiválasztott metabolit átmeneteit. A 4F-MDMB-BICA mennyiségi méréséhez meghatároztuk a főbb validálási paramétereket úgy, mint a kimutatási határt, a meghatározási határt, a linearitást, a pontosságot, a precizitást, a visszanyerést, a mátrixhatást és a teljes folyamathatékonyságot. A kapott validálási eredmények igazolták, hogy a célzott LC-MS/MS módszer és a hozzá kapcsolódó mintaelőkészítési eljárások alkalmasak a 4F-MDMB-BICA vizelet- és vérmintákból történő mennyiségi analízisére. Következő lépésként meghatároztuk a 4F-MDMB-BICA anyamolekula koncentrációját két vér- és öt vizeletmintában. A kapott eredmények alapján megállapítottuk, hogy amíg a két vizsgált vérminta esetében a 4F-MDMB-BICA szintje mennyiségileg meghatározható volt (0,920 ng/ml és >10 ng/ml), addig az öt vizsgált vizeletmintából egy esetben tudtuk detektálni az anyamolekulát (0,970 ng/ml). Mindemellett a kiválasztott karakterisztikus metabolitokat az összes vér- és vizeletminta esetében ki tudtuk mutatni. Ami jól mutatja, hogy a szintetikus kannabinoidok kimutatásának metabolomikus megközelítése fontos az igazságügyi és toxikológiai gyakorlatban.

4. Az eredmények gyakorlati hasznosítása

A dolgozatomban bemutatott új bioanalitikai módszereket sikeresen alkalmaztuk a kutatások során felmerülő orvos-biológiai kérdések megválaszolására. A kifejlesztett egy- és kétdimenziós analitikai módszereket egyrésztől hatékonyan alkalmaztuk agyi és vérplazma foszfolipid szintek meghatározására, másrésztől a kapott eredmények egyértelműen igazolták a foszfolipidek szerepét a szorongásos megbetegedések egérmodelljében. Egy gyors és megbízható célzott kétdimenziós bioanalitikai módszert dolgoztunk ki, amelyet sikeresen használtunk az iszkémia során fellépő sejtkárosító hatás csökkentése céljából adagolt DMT agyi és vérplazma koncentrációjának meghatározására. A doktori munkám részét nem képező további biológiai kísérletek bizonyították, hogy a kísérlet során intravénásan adagolt DMT

kivédte az iszkémiás sejtkárosodást. Az alkalmazott átfogó és félig célzott analitikai megközelítéssel azonosítottuk a 4F-MDMB-BICA legújabb szintetikus kannabinoid *in vitro* és *in vivo* I. fázisú reakciók során keletkezett metabolitjait. Meghatároztuk a 4F-MDMB-BICA karakterisztikus metabolitjait, amelyek detektálva egyértelműen igazolható vérből és vizeletből a szer használata függetlenül az anyamolekula detektálhatóságától. Az anyavegyület és a kiválasztott metabolitokkal továbbfejlesztettük a meglévő célzott analitikai módszerünket, amelyet azóta sikeresen alkalmazunk az igazságügyi gyakorlatban.

5. Közlemények listája

Magyar Tudományos Művek Tára (MTMT) azonosító: 10062186

5.1. Az értekezés alapját képező közlemények

1. R. Berkecz, **T. Körmöczi**, F. Tömösi, V. Szegedi, J. Horváth, N. Kovács, T. Janáky
Plasma phospholipid profiling of a mouse model of anxiety disorder by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry
Biomedical Chromatography, 32 (2018) e4202.
DOI: 10.1002/bmc.4202 **IF: 1,760** (SJR indikátor: Q2)
2. R. Berkecz, F. Tömösi, **T. Körmöczi**, V. Szegedi, J. Horváth, T. Janáky
Comprehensive phospholipid and sphingomyelin profiling of different brain regions in mouse model of anxiety disorder using online two-dimensional (HILIC/RP)-LC/MS method
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 149 (2018) 308-317.
DOI: 10.1016/j.jpba.2017.10.043 **IF: 3,077** (SJR indikátor: Q1)
3. **T. Körmöczi**, Í. Szabó, E. Farkas, B. Penke, T. Janáky, I. Ilisz, R. Berkecz
Heart-cutting two-dimensional liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry for determination of N,N-dimethyltryptamine in rat plasma and brain; Method development and application
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 191 (2020) 113615
DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113615 **IF: 3,935** (SJR indikátor: Q1)
4. **T. Körmöczi**, É. Sija, L. Institóris, É. Kereszty, I. Ilisz, R. Berkecz
Analytical Methodologies for the Characterization and Analysis of the Parent Compound and Phase I Metabolites of 4F-MDMB-BICA in Human Microsome, Urine and Blood Samples
Journal of Analytical Toxicology, (2021) bkab004.
DOI: 10.1093/jat/bkab004 **IF(2020): 3,367** (SJR indikátor: D1)
Összesített IF: 12,139

5.2. Az értekezés témájához kapcsolódó, az értekezésben fel nem használt közlemények

1. K. Kovács, É. Kereszty, R. Berkecz, L. Tiszlavicz, É. Sija, **T. Körmöczi**, N. Jenei, H. Révész-Schmehl, L. Institóris
Fatal intoxication of a regular drug user following N-ethyl-hexedrone and ADB-FUBINACA consumption
Journal of Forensic and Legal Medicine, 65 (2019) 92-100.
DOI: 10.1016/j.jflm.2019.04.012 **IF:1,302** (SJR indikátor: Q1)

2. Í. Szabó, V.É. Varga, S. Dvorácskó, A.E. Farkas, **T. Körmöczi**, R. Berkecz, S. Kecskés, Á. Menyhárt, R. Frank, D. Hantosi, N.V. Cozzi, E. Frecska, C. Tömböly, I.A. Krizbai, F. Bari, E. Farkas
N,N-Dimethyltryptamine attenuates spreading depolarization and restrains neurodegeneration by sigma-1 receptor activation in the ischemic rat brain
Neuropharmacology, 192 (2021) 108612
DOI: 10.1016/j.neuropharm.2021.108612 **IF(2020): 5,250** (SJR indikátor: Q1)

 3. V. Kovács, G. Remzsó, **T. Körmöczi**, R. Berkecz, V. Tóth-Szúki, A. Péntes, L. Vécsei, F. Domoki
The Kynurenic Acid Analog SZR72 Enhances Neuronal Activity after Asphyxia but Is Not Neuroprotective in a Translational Model of Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy
International Journal of Molecular Sciences, 22.9 (2021) 4822
DOI: 10.3390/ijms22094822 **IF(2020): 5,923** (SJR indikátor: D1)

 4. L. Institóris, K. Kovács, É. Sija, R. Berkecz, **T. Körmöczi**, I. Németh, I. Elek, Á. Bakos, I. Urbán, C. Pap, É. Kereszty
Clinical symptoms and blood concentration of new psychoactive substances (NPS) in intoxicated and hospitalized patients in the Budapest region of Hungary (2018-19)
Clinical Toxicology, (2021) 1-7.
DOI: 10.1080/15563650.2021.1928162 **IF(2020) 4,467** (SJR indikátor: Q2)

 5. S. Hornok, R. Berkecz, E. Sós, A. D. Sándor, T. Körmöczi, N. Solymosi, J. Kontschán, A. Hunyadi
Arthropod moulting hormones (ecdysteroids) are present in the blood of insectivorous bats
Mammal Review, (2022)
DOI: 10.1111/mam.12283 **IF(2021) 4,927** (SJR indikátor: D1)
- Összesített IF: 21,869**
ΣΣ IF: 34,008

9.3. Előadások

1. **T. Körmöczi**, É. Sija, R. Berkecz
Dizájner drogok fogyasztásának igazolása a metabolomika segítségével
Tavaszi Szél Konferencia 2018: Nemzetközi Multidiszciplináris Konferencia, 2018. Május 4-6., Magyarország, Győr

2. É. Sija, R. Berkecz, L. Institóris, **T. Körmöczi**, T. Janáky, É. Kereszty
Detections and Metabolism of Three Synthetic Cannabinoids
26th International Meeting on Forensic Medicine, Alpe-Adria-Pannonia, 2018. Május 30-Június 2., Horvátország, Póla

3. É. Sija, R. Berkecz, L. Institóris, **T. Körmöczi**, É.M. Kereszty
Adb-Fubinaca okozta intoxikáció büntetés-végrehajtási intézetben, Esetbemutatás
A Magyar Igazságügyi Orvosok Társasága XVI. Nemzetközi Konferenciája, 2018. Augusztus 30-Szeptember 1., Magyarország, Pécs

4. B. Barna, **T. Körmöczi**, É. Sija, R. Berkecz
Laboratory challenges of detecting synthetic cannabinoids in urine samples – a new sample preparation method
24th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, **2018**. Október 8-9., Magyarország, Szeged
5. É. Sija, R. Berkecz, L. Institóris, **T. Körmöczi**, É. Kereszty
Szintetikus kannabinoidok in vitro és in vivo képződő metabolitjainak vizsgálata
TOX'2018 Tudományos Konferencia, **2018**. Október 17-19., Magyarország, Lillafüred
6. **T. Körmöczi**, O. Kovács, É. Sija, Á. Hunya, R. Samavati, R. Gáspár, L. Institóris, I. Ilisz, R. Berkecz
Analysis of Designer Drugs and Their Metabolites in Blood and Urine Samples
25th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, **2019**. Október 7-8., Magyarország, Szeged
7. É. Sija, L. Institóris, R. Berkecz, **T. Körmöczi**, K. Kovács, É.M. Kereszty
5F-MDMB-PICA és 5F-MDMB-PINACA metabolitjainak in vitro és in vivo vizsgálata
TOX'2019 Tudományos Konferencia, **2019**. Október 9-11., Magyarország, Szeged
8. **T. Körmöczi**, O. Kovács, É. Sija, Á. Hunya, R. Samavati, R. Gáspár, L. Institóris, I. Ilisz, R. Berkecz
Dizájner drogok és metabolitjaik az igazságügyi gyakorlatban
XLII. Kémiai Előadói Napok, **2019**. Október 28-30., Magyarország, Szeged
9. **T. Körmöczi**, É. Sija, R. Berkecz
The Most Common Synthetic Cannabinoids in the Last Year; Focusing on Their Metabolites in Biofluids
26th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, **2020**. November 23-24., Magyarország, Szeged, online

5.4. Posztterek

1. R. Berkecz, F. Tömösi, **T. Körmöczi**, T. Janáky
Development and Application of a Novel Comprehensive Online Two-Dimensional Liquid Chromatography Coupled with High-Resolution Mass Spectrometry Method in Lipidomics
11th Balaton Symposium on High-Performance Separation Methods in memoriam of Ernő Tyihák, **2017**. Szeptember 6-8., Magyarország, Siófok.
2. **T. Körmöczi**, É. Sija, R. Berkecz
Analysis of new synthetic cannabinoid in human urine by LC-MS/MS
23rd International Symposium on Analytical and Environmental Problems, **2017**. Október 9-10., Magyarország, Szeged

3. É. Sija, **T. Körmöczi**, F. Tömösi, T. Janáky, L. Institóris, É.M. Kereszty, R. Berkecz
ADB-FUBINACA és CUMYL-PEGACLONE metabolitjainak azonosítása human májmikroszómából
TOX'2017 Tudományos Konferencia, **2017**. Október 11-13., Magyarország, Bükkfűrdő
4. **T. Körmöczi**, É. Sija, R. Berkecz
Challenges in Detecting Synthetic Cannabinoids in Human Urine Samples (Focus on their Metabolism)
36th Informal Meeting on Mass Spectrometry, **2018**. Május 6-9., Magyarország, Kőszeg
5. **T. Körmöczi**, É. Sija, O. Nagy, Zs. Ruppert, Á. Hunya, R. Berkecz
Challenges in Detection of the Recently Emerged Synthetic Cannabinoids in Human Urine Samples
26th International Meeting on Forensic Medicine, Alpe-Adria-Pannonia, **2018**. Május 30-Június 2., Horvátország, Póla
6. A. Dweny, **T. Körmöczi**, O. Kovács, R. Samavati, R. Gáspár, R. Berkecz
Development of targeted LC-MS/MS method for analysis of diclofenac and its main metabolites in rat liver perfusion solution obtained by new type of ex vivo perfusion system
24th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, **2018**. Október 8-9., Magyarország, Szeged
7. **T. Körmöczi**, É. Sija, R. Berkecz
Identification of the main metabolites of three synthetic cannabinoids using LC-MS/MS technique
24th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, **2018**. Október 8-9., Magyarország, Szeged
8. **T. Körmöczi**, O. Kovács, R. Samavati, É. Sija, R. Gáspár, R. Berkecz
Májperfúziós ex vivo vizsgálat lehetőségei a dizájner drog metabolit kutatásban
TOX'2018 Tudományos Konferencia, **2018**. Október 17-19., Magyarország, Lillafüred
9. **T. Körmöczi**, O. Kovács, A. Dweny, R. Samavati, R. Gáspár, R. Berkecz
Újtípusú májperfúziós módszer kísérleti beállítása diklofenák hatóanyag segítségével
Elválasztástudományi Vándorgyűlés, **2018**. November 8-9., Magyarország, Tapolca
*poszerfődíj
10. O. Kovács, R. Samavati, **T. Körmöczi**, R. Berkecz, R. Róbert
Development of vapor chamber rat liver perfusion system for metabolite research
RECOOP 14th Bridges in Life Sciences Conference, **2019**. Április 10-12., Szlovákia, Pozsony
11. R. Berkecz, **T. Körmöczi**, Í. Szabó, E. Farkas, E. Frecska, T. Janáky
Development and application of heart-cutting 2D-LC-MS/MS method for analysis of N,N-dimethyltryptamine in brain samples
12th Balaton Symposium on High-Performance Separation Methods, **2019**. Szeptember 11-13., Magyarország, Siófok

12. **T. Körmöczi**, O. Kovács, R. Samavati, R. Gáspár, R. Berkecz
Ex vivo Pharmacokinetic Profiles of CUMYL-PeGaCLONE Synthetic Cannabinoid and Its Metabolites
12th Balaton Symposium on High-Performance Separation Methods, **2019**. Szeptember 11-13., Magyarország, Siófok
13. N. Kmetykó, **T. Körmöczi**, Í. Szabó, E. Farkas, T. Janáky, I. Ilisz, R. Berkecz
Determination of Dimethyltryptamine in Rat Plasma Using 2D-LC-MS/MS Method
25th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, **2019**. Október 7-8., Magyarország, Szeged
14. L. Institóris, É. Sija, I. Elek, R. Berkecz, **T. Körmöczi**, É. Kereszty
Designer drogok gyakorisága és jellemzése intoxikált droghasználók vérmintáinak idősoros analízise alapján
TOX'2019 Tudományos Konferencia, **2019**. Október 9-11., Magyarország, Szeged
15. Í. Szabó, **T. Körmöczi**, S. Dvorácskó, D. Hantosi, A. Menyhárt, F. Bari, R. Berkecz, C. Tömböly, B. Penke, E. Farkas
Dimethyltryptamine attenuates spreading depolarization in the ischemic rat brain
IBRO Workshop, **2020**. Január 29-30., Magyarország, Szeged
16. Í. Szabó, V.E. Varga, **T. Körmöczi**, S. Dvorácskó, D. Hantosi, A. Menyhárt, F. Bari, R. Berkecz, B. Penke, E. Farkas
Dimethyltryptamine Attenuates Spreading Depolarization and Apoptotic Cell Death in the Ischemic Rat Brain
4th Hungarian Neuroscience Meeting for Undergraduate Students, Graduate Students, and Junior Post-Docs, HUNDOC 2020, **2020**. Január 28., Magyarország, Szeged
17. **T. Körmöczi**
Quantitative analysis of synthetic cannabinoids and their metabolites in human urine and blood samples
EUGLOH Annual Student Research Conference, **2020**. Szeptember 28-30., online

5.5. Témavezetések

1. Nagy Olivér, biológia BSc. szakdolgozat
Legújabb dizájnner drogok metabolitjainak LC-MS/MS azonosítása (2018)
Témavezetők: Dr. Berkecz Róbert egyetemi adjunktus, **Körmöczi Tímea** PhD hallgató
Belső konzulens: Dr. Szekeres András tudományos munkatárs
2. Dweny Mohamed Ayaallah Mohamed, vegyész MSc. diplomamunka
Development and application of liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for identification of designer drug metabolites (2018)
Témavezetők: Dr. Berkecz Róbert egyetemi adjunktus, **Körmöczi Tímea** PhD hallgató
Belső Konzulens: Prof. Dr. Pálinkó István egyetemi tanár

3. Kmetykó Noémi, kémia BSc. szakdolgozat
Célzott UHPLC-MS/MS analitikai módszer kifejlesztése és alkalmazása kinurénsav, xanturénsav és legújabb származékaiknak mennyiségi meghatározására (2020)
Témavezetők: Dr. Berkecz Róbert egyetemi adjunktus, **Körmöczi Tímea** tudományos segédmunkatárs
Belső konzulens: Dr. Alapi Tünde egyetemi adjunktus

4. Kovács Petra, gyógyszerészhallgató szakdolgozat (2022)
Témavezetők: Berkecz Róbert egyetemi adjunktus, **Körmöczi Tímea** tudományos segédmunkatárs, PhD hallgató