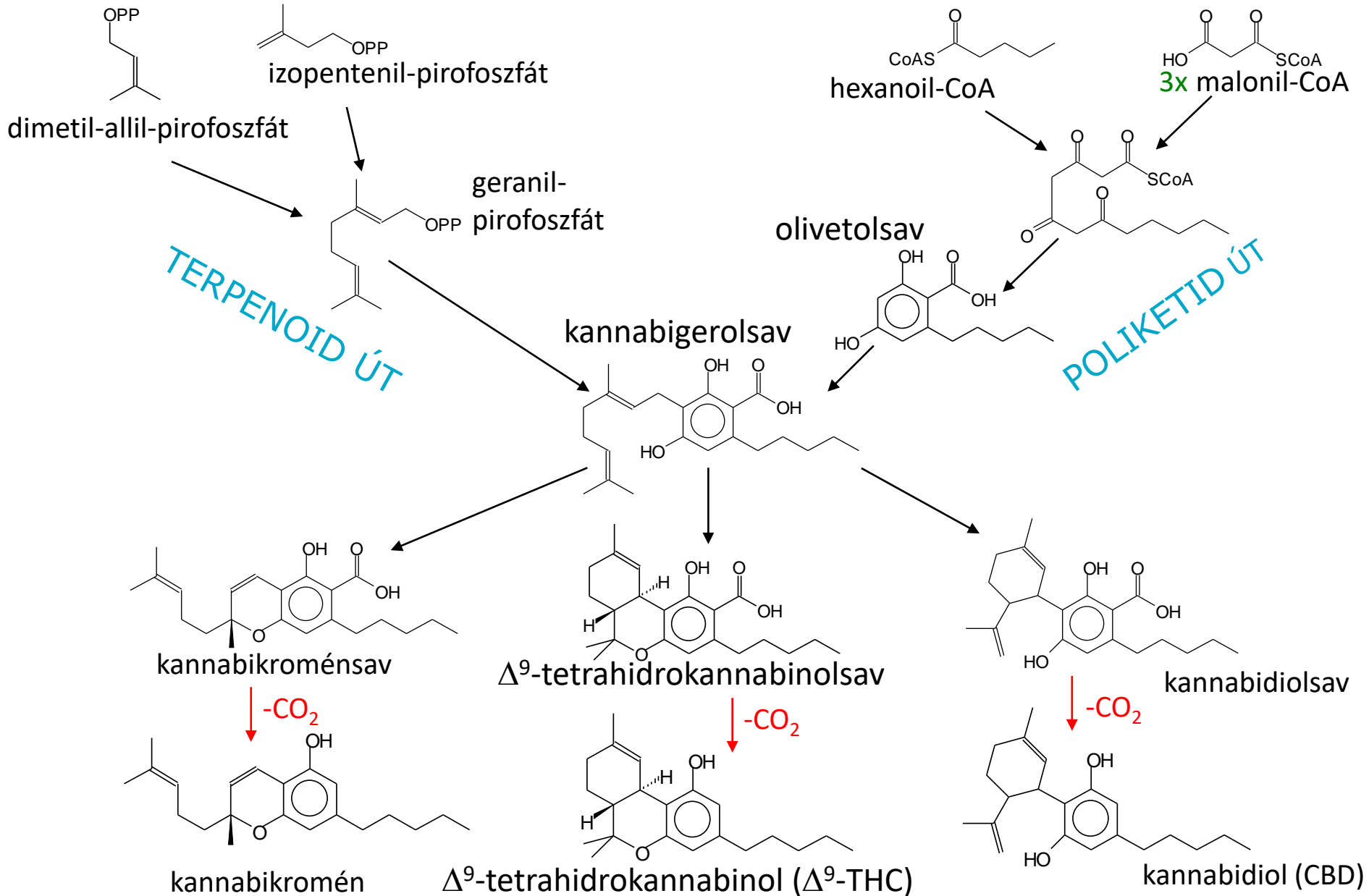


A CBD-olaj fogyasztásának igazságügyi toxikológiai vonatkozásai

**Dobos Adrienn, Hegyiné Kemenes Klaudia, Hidvégi Előd,
Bódi-Jenei Nikolett, Kovács Anikó, Sebők Olivér Marcell,
Szabó Levente, Szabó-Egri Edit, Süvegh Gábor, Tajti
László Balázs, Zséli Györgyi**
NSZKK Toxikológiai Szakértői Intézet

TOX'2022 Tudományos Konferencia
Zalakaros, 2022. október 12-14.

Bioszintézis



Jelentős CBD-tartalmú drogok, készítmények

- **Epidiolex/Epidyolex®**: gyermekkori epilepszia (FDA: 2018, EMA: 2019, Mo.: 2019.09.19. EU/1/19/1389).
- **Magas CBD-tartalmú kenderek** („CBD-marihuána”)
- **Kenderolaj**
- **Teljes spektrumú CBD-olajok**:
 - CBD: 5-30%
 - THC: 0,004-0,2% (átlagosan 0,07%, egyes termékekben akár 0,35%, másokban nem detektálható)
- **Széles spektrumú CBD-olajok**:
 - CBD: 5-30% (THC nincs)
- CBD-tartalmú **„e-liquid”**
 - CBD: 0,2-3,4%
 - THC: <0,10%
- További termékek: tinktúra, kapszula, szoftgél, gumicukor; testkrém, masszázsolaj és balzsam (külsőleg) stb.



Jelentős CBD-tartalmú drogok, készítmények

Megnevezés	CBD-tartalom	THC-tartalom
„light Cannabis”/CBD joint	2 - 25(40)%	<0,2/<0,3%/<1%
Kenderolaj	<0,1%	<0,01% (EISOhly, 2020)
CBD olaj	5 - 30%	0,004 – 0,35% (Pavlovic, 2018)* 0,1 – 1,5% (Byrska, 2022)
CBD e-liquid	0,2 – 3,4%	<0,1% (Grafinger, 2020)

Megj.: A „természetes” kivonatokban a savszármazékokkal is számolni kell (füstölés, e-cigaretta).

**Egyes termékekben nem volt kimutatható.*

„CBD-oil defence”

A fogyasztói védekezés: a karboxi-THC-pozitivitás a vizeletben **CBD-olajak rendszeres és/vagy nagy dózisú alkalmazása** miatt van.

Több tanulmány is igazolta, hogy rendszeres és/vagy nagyobb dózisú CBD-termék fogyasztása következtében a vizeletben a teljes 11-nor-9-karboxi- Δ^9 -THC (THC-COOH) koncentrációja akár jelentősen is meghaladhatja az ajánlott 15 ng/ml-es pozitívítási határértéket (*cut off*).

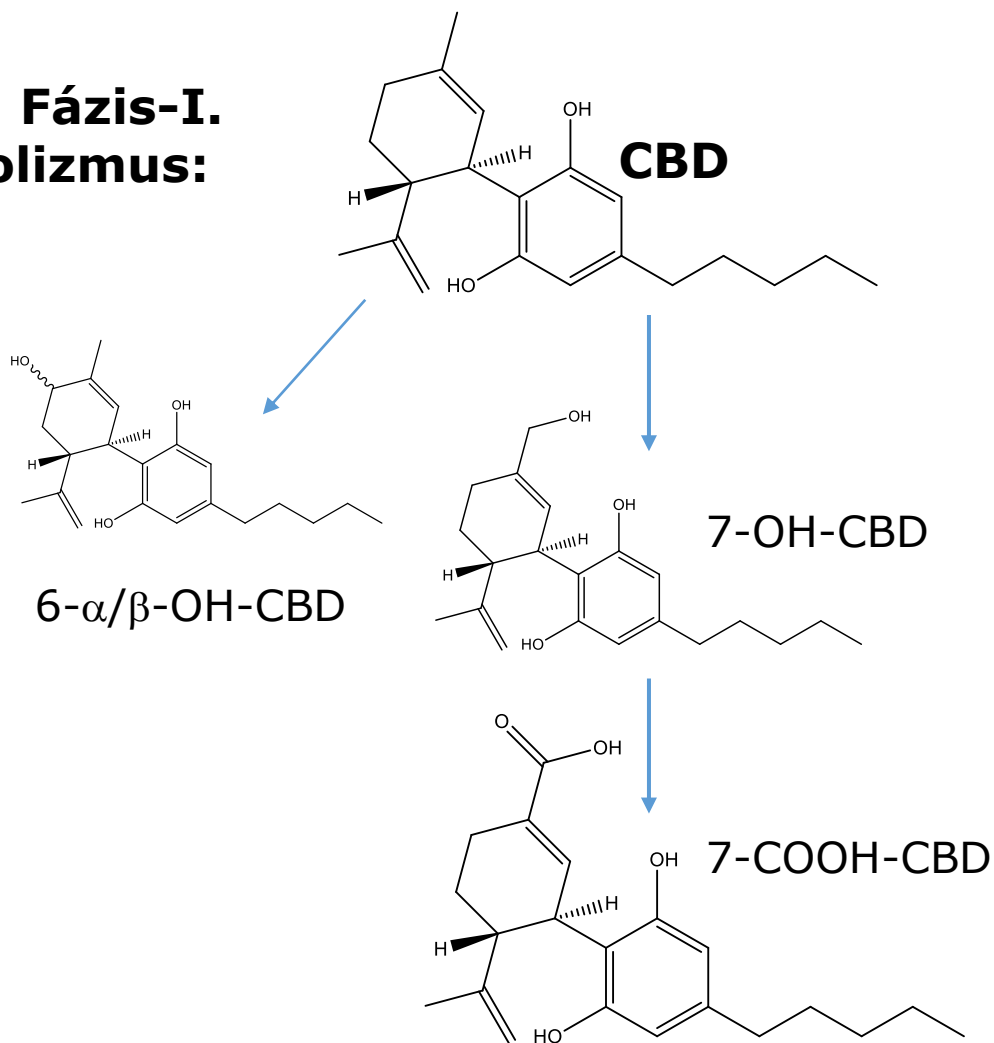
Pl.: Egy 4 hetes CBD-olaj használat átlagosan 35 (0-71) ng/ml THC-COOH-szintet is eredményezhet (napi ~35 mg CBD és 0,8 mg THC; Dahlgren et al., 2021.).

Eddigi megoldási lehetőségek:

- 1. THC-bomlástermékek:** ezek alapján **a kérdés nem ítéhető** meg, így **a védekezés nem cáfolható**, hiszen általában nem lehet kizárni a nagyobb dózisú CBD fogyasztását.
- 2. Bomlatlan THC/CBD-arány:**
 - CBD-cigaretta: THC/CBD < 2
 - Problémák: alacsony koncentráció, ill. glükuronid-éter konjugátum

Javaslat az „CBD-oil defence” (CBD-olajos védekezés) kezelésére

**Humán Fázis-I.
metabolizmus:**



Hipotézis:

A fő **CBD-metabolit koncentrációja, illetve karboxi-THC-hez viszonyított aránya** feltehetően nagyobb segítséget nyújt az esetek megítélésében.

Célkitűzések

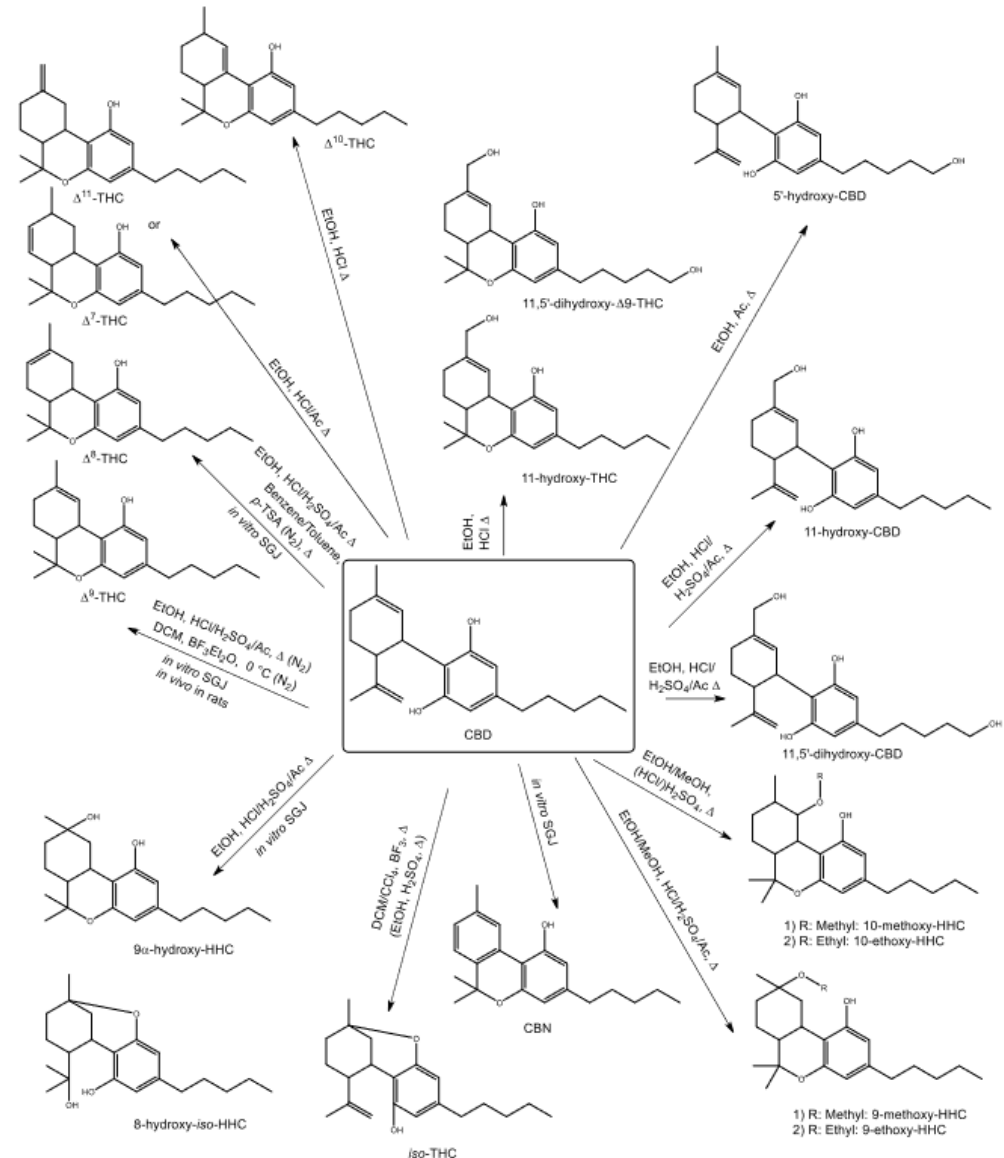
- A **CBD** és főbb metabolitjainak (főleg a **7-karboxi-CBD**) **monitorozása** vérben, vizeletben.
- Összehasonlító vizsgálat és adatgyűjtés ismert, anonim CBD-olaj-fogyasztók bevonásával.
- A kapott adatok (CBD-COOH, THC-COOH és ezek aránya) **statisztikai elemzése**.
- Az **arányérték megbízhatóságának validálása** a CBD→THC termikus átalakulás szempontjából.

Célkitűzések - kiegészítés

A CBD degradációja *in vitro*
(Golombek et al., 2020.):

A jelenlegi felfogás szerint a
CBD > THC átalakulás *in vivo*
nem megy végbe.

(Nahler et al., 2017.
Crippa et al., 2020.)



Minták kiválasztása

Vizeletminták

Minták monitorozása
LC-MS/MS szűrővizsgálattal (2022. február-)

4798 db kannabinoid-pozitív minta kiválasztása

Ismételt LC-MS/MS vizsgálat
CBD-re és ismert/feltételezett metabolitjaira
(a THC-COOH rutinmegerősítése során)

103 db pozitív minta kiválasztása

enzimes hidrolízis és LC-MS/MS célvizsgálat:
CBD-COOH és THC-COOH mennyiségi
meghatározása (87 db CBD-COOH-pozitív)

Vérminták

Vizeletminták monitorozása
LC-MS/MS szűrővizsgálattal

376 db vérminta kiválasztása a
kannabinoid-pozitív ügyekben

GC-MS/MS-vizsgálat THC, CBD és
metabolitjaik irányában
(238 kannabinoid-pozitív, 65 CBD-
COOH-pozitív)

E-cigaretta kísérletek

Aspire Nautilus
Mesh kazán
(15/28 W)

vákuum
(5×4; 5×8 sec.,
3 InHg)



metanol
(12,5-25 ml)

Vaporesso Revenger
Mod/Aspire K3

Adatok ismert CBD-olajak anonim önkéntes fogyasztóitól



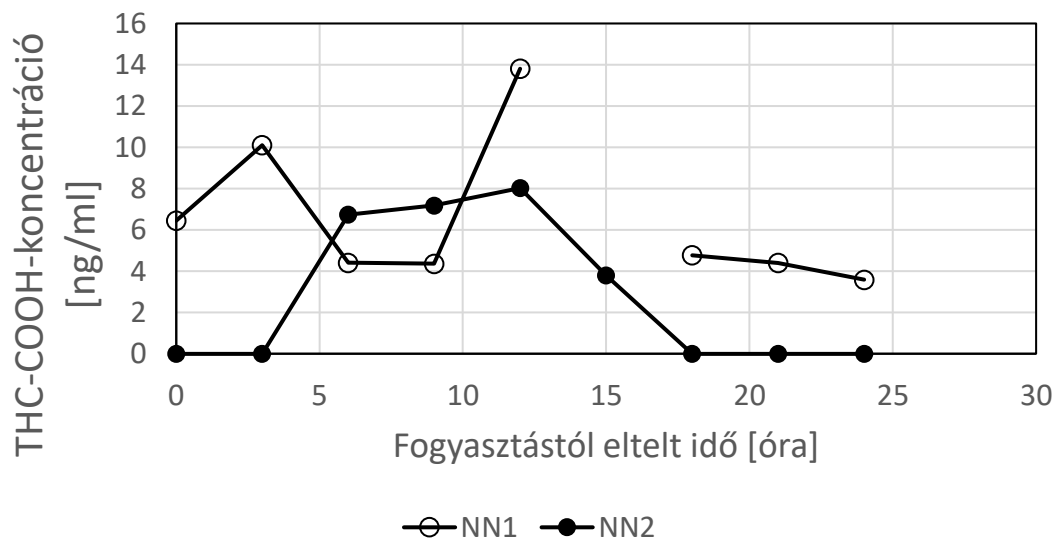
- MediHemp Hanf Natural Aromaöl (5% CBD)/
Jacob Hooy Full Spectrum CBD oil (5% CBD)
- **CBD**-dózis: 31-38 mg
- **THC**-dózis: 0,23-0,44 mg
- Egyszeri (n=3)/egy héten át naponta (n=2)
- Vizelet rögzítése 3 óránként



Eredmények

– vizeletürítéssel vizsgálat

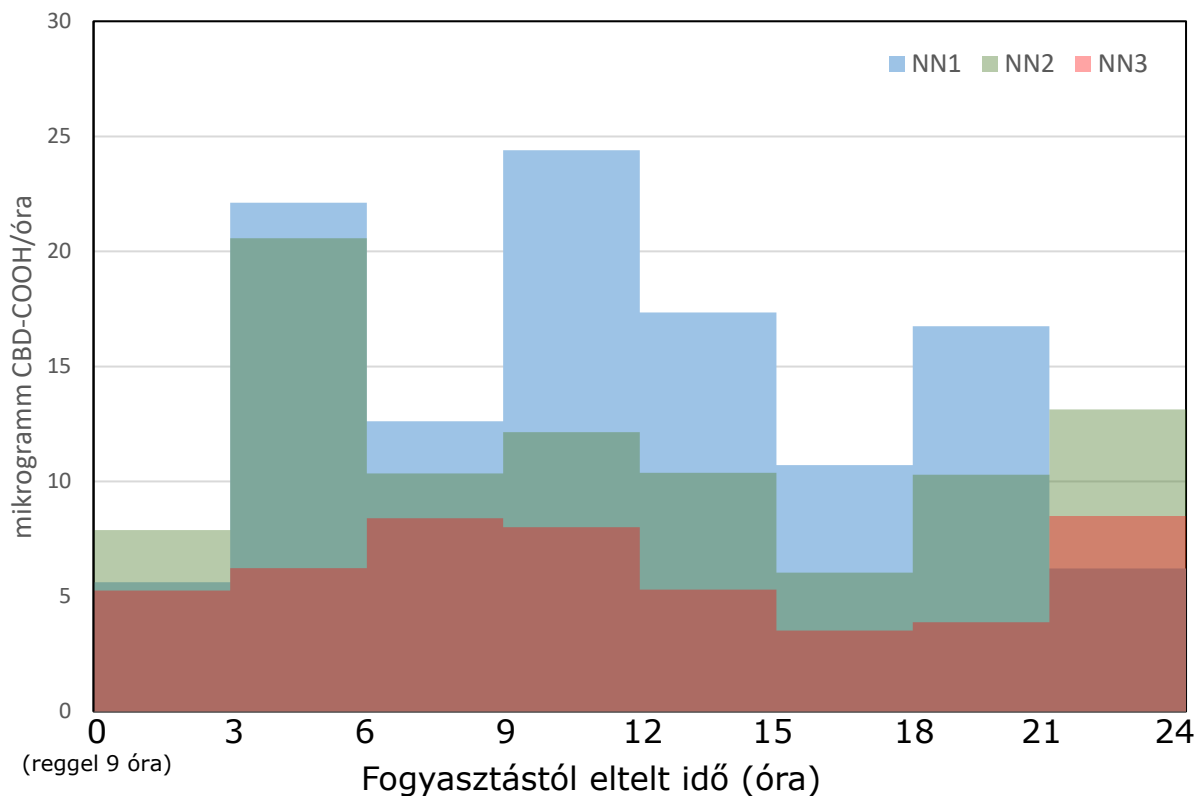
- Az egyszeri dózis egy-egy mintában mutattunk ki 3 ng/ml körüli THC-COOH-t.
- Az egy héten át, napi rendszerességű CBD-olaj fogyasztása után a THC-COOH-koncentráció megközelítheti a *cut off* értéket (15 ng/ml, ld. grafikon).



Eredmények

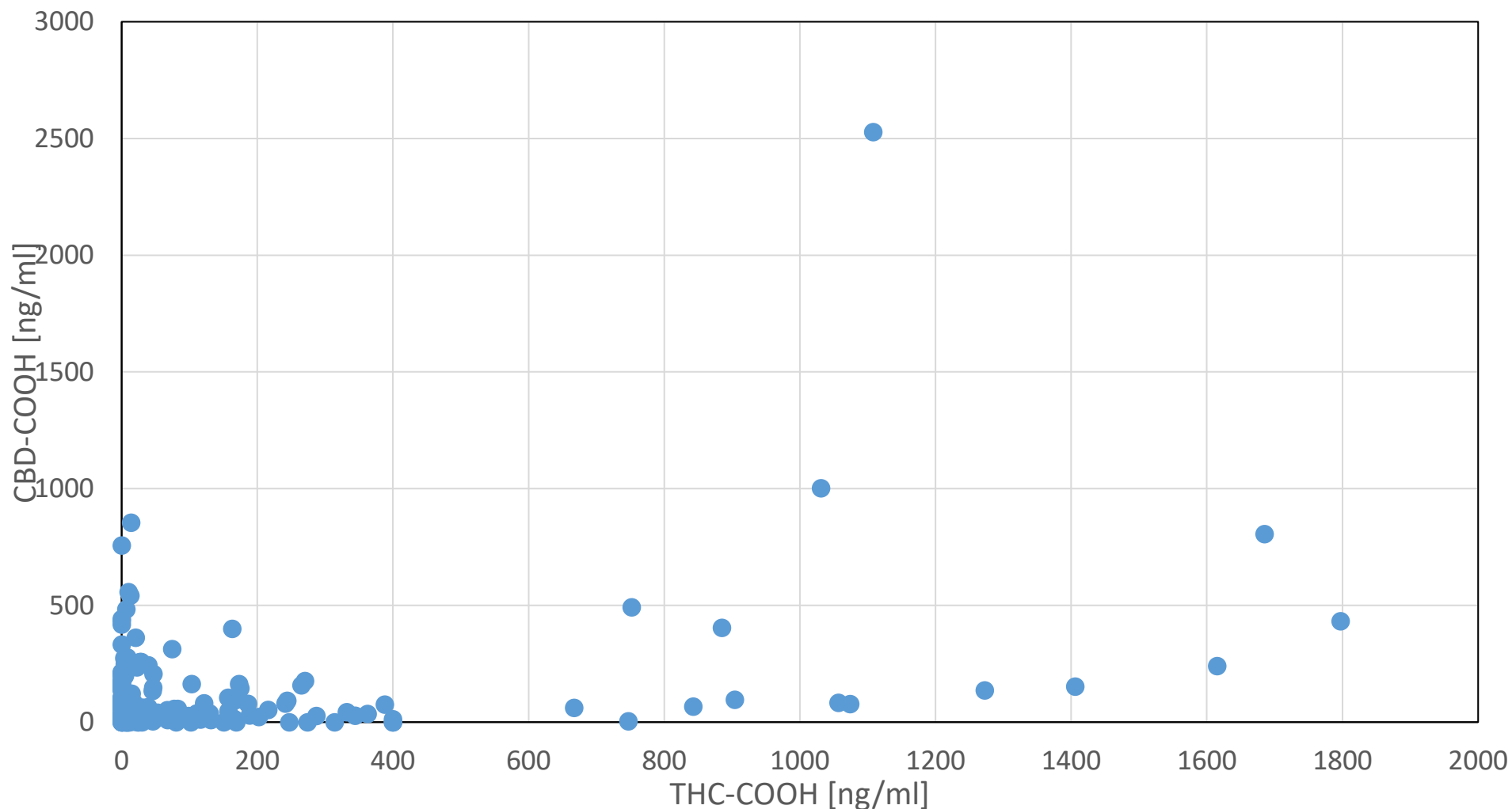
– vizeletürítési vizsgálat

- 24 óra alatt a bevitt 37,5 mg CBD-mennyiség 0,4-1,7%-a ürült csupán 7-COOH-CBD formájában (egyszeri fogyasztás)
- Kettős csúcsú ürülési görbe:



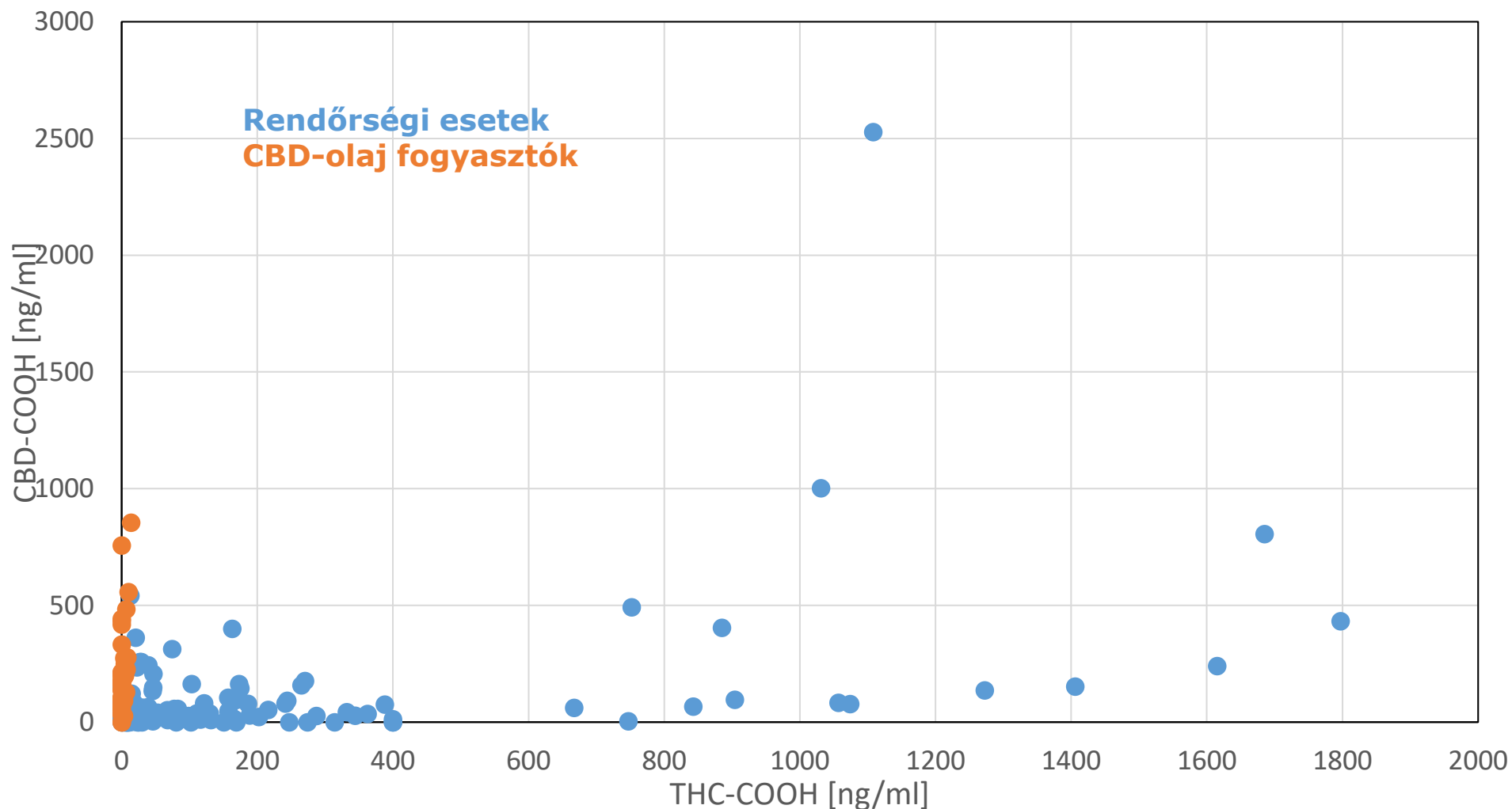
Eredmények

- CBD-COOH/THC-COOH-arány statisztikai elemzése



Eredmények

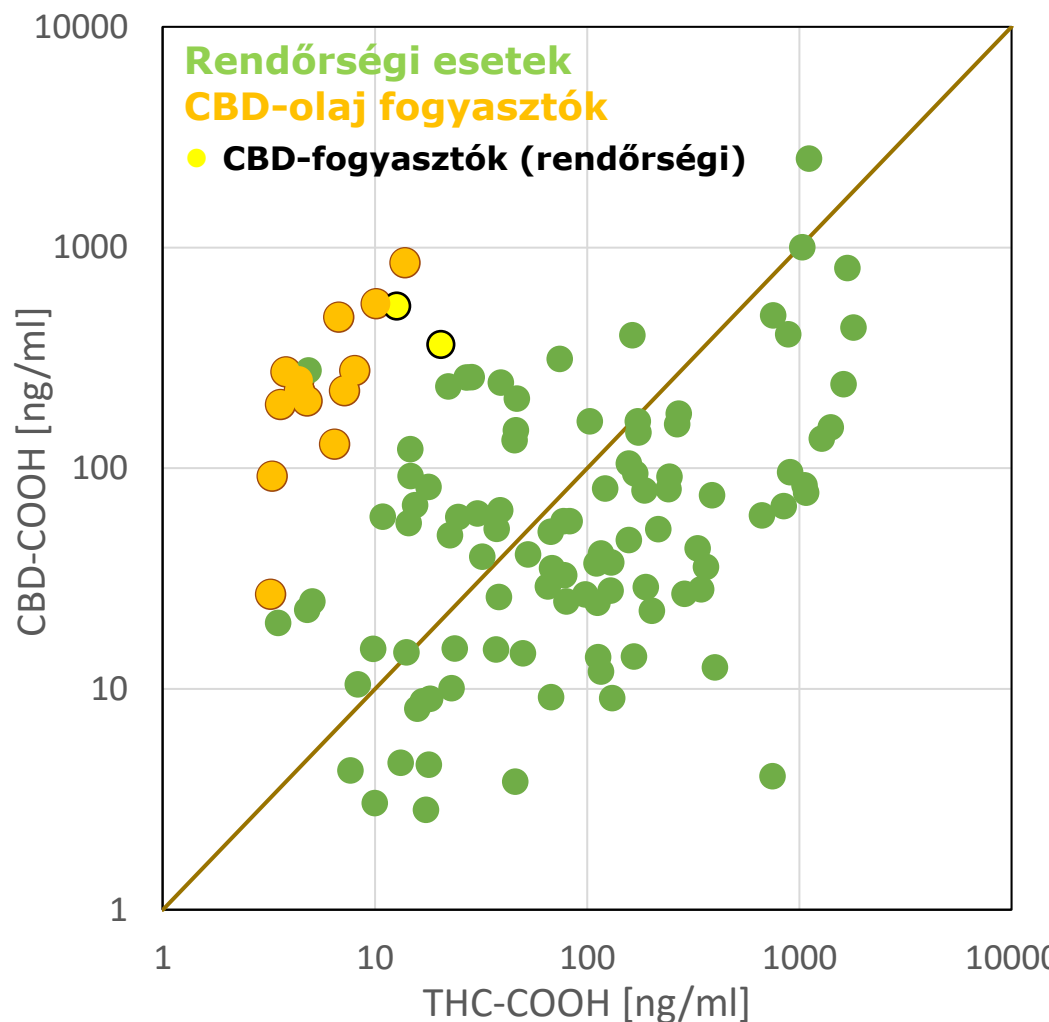
- CBD-COOH/THC-COOH-arány statisztikai elemzése





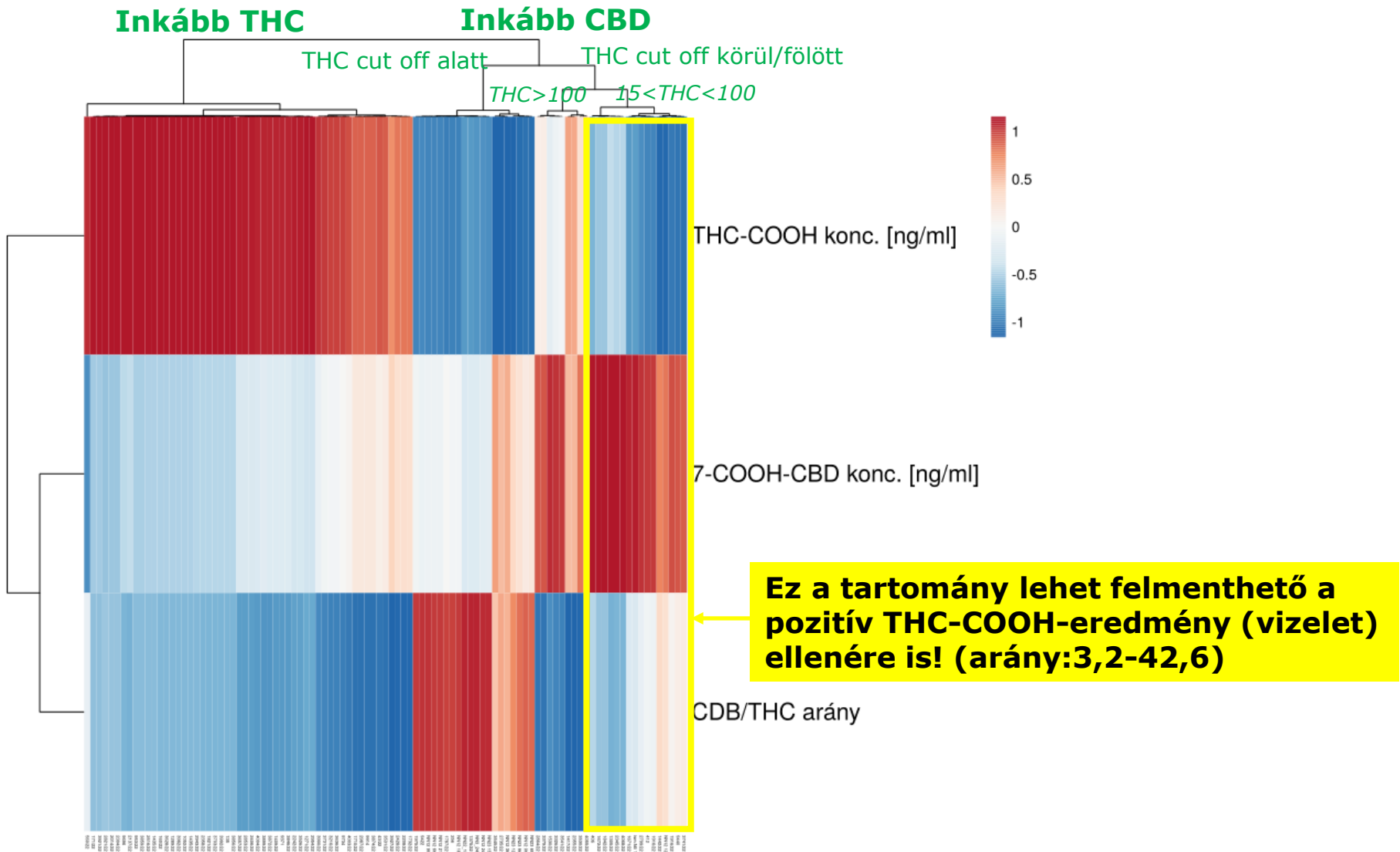
CBD-COOH/THC-COOH arány statisztikai elemzése

- Szakirodalom alapján 71 ng/ml THC-COOH koncentráció volt a maximum 4 hetes teljes-spektrum CBD-olaj fogyasztás után.
- Anonim mintáink esetében a maximális érték 13,8 ng/ml.
- Rendszeres fogyasztó: 75 ng/ml THC-COOH
- **CBD-kifogás felső határ: 100 ng/ml**



Eredmények

- CBD-COOH/THC-COOH-arány statisztikai elemzése: Heat map

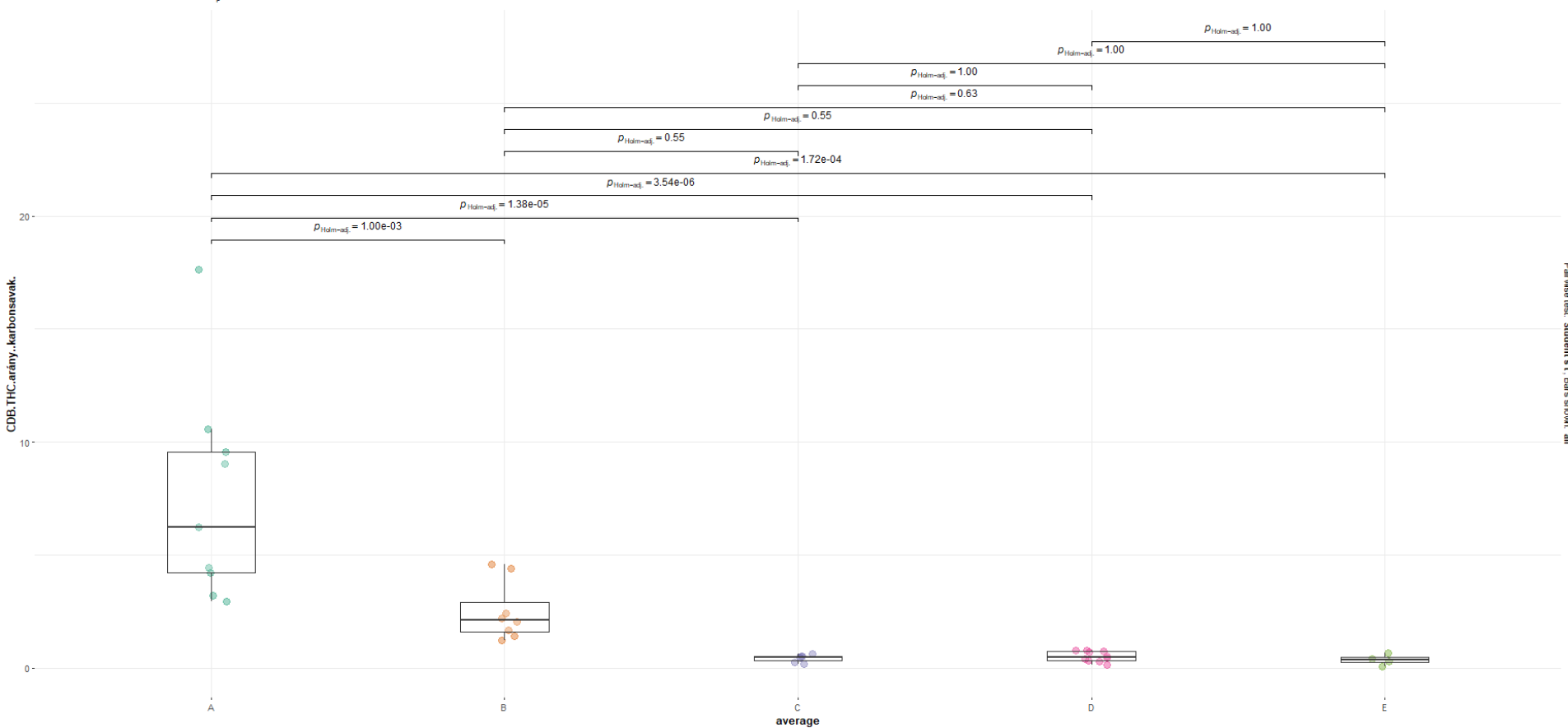




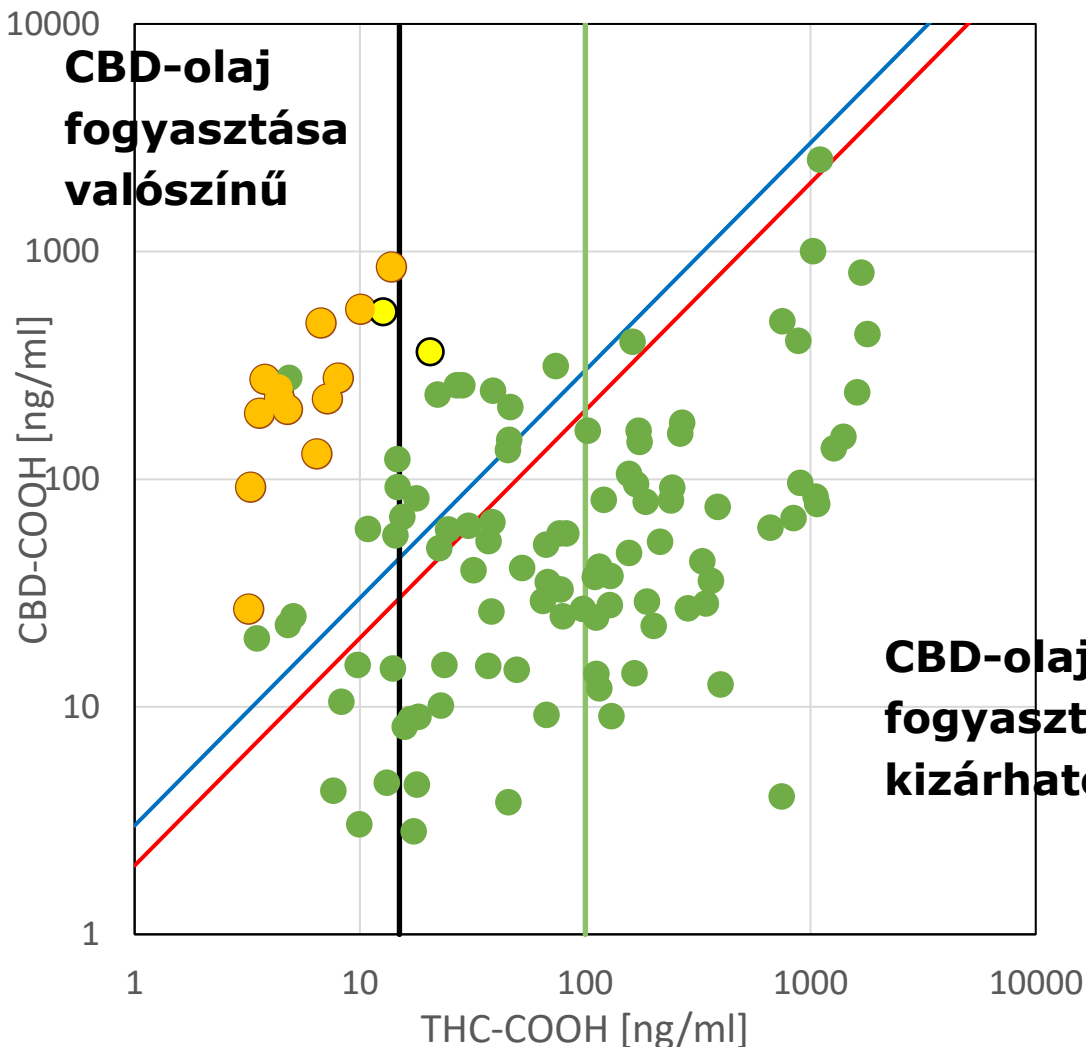
Eredmények

- CBD-COOH/THC-COOH-arány statisztikai elemzése: klaszteranalízis

$F_{\text{Fisher}}(4, 33) = 13.58$, $p = 1.20e-06$, $\hat{\alpha}_p^2 = 0.57$, $CI_{95\%} [0.34, 1.00]$, $n_{\text{obs}} = 38$



CBD-COOH/THC-COOH arány statisztikai elemzése

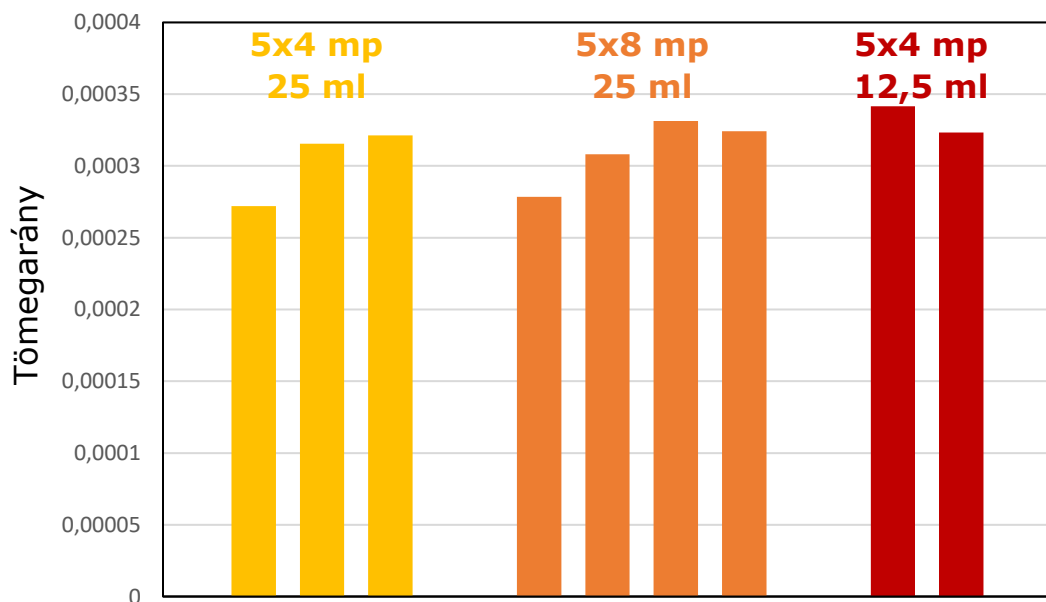


A 87 hatósági lefoglalásból és az ürülvizsgálatból származó CBD-COOH és THC-COOH-pozitív mintákon végzett klaszteranalízis, ill. a rendelkezésre álló eddigi adatok szerint **akkor zárható ki** nagy valószínűséggel a CBD-olajas védekezés, ha a **CBD-COOH/THC-COOH kisebb, mint 2**.

CBD-termék fogyasztása akkor valószínűsíthető, ha az arány nagyobb, mint 3.

Eredmények – e-cigaretta

- THC/CBD tömegarány meghatározása GC-MS/MS módszerrel.
- 6 féle kísérleti beállítás.
- Tájékoztató mérés: a hígítás megtervezése a CBD-koncentráció alapján.
- Kísérleti rendszer **validálása**.

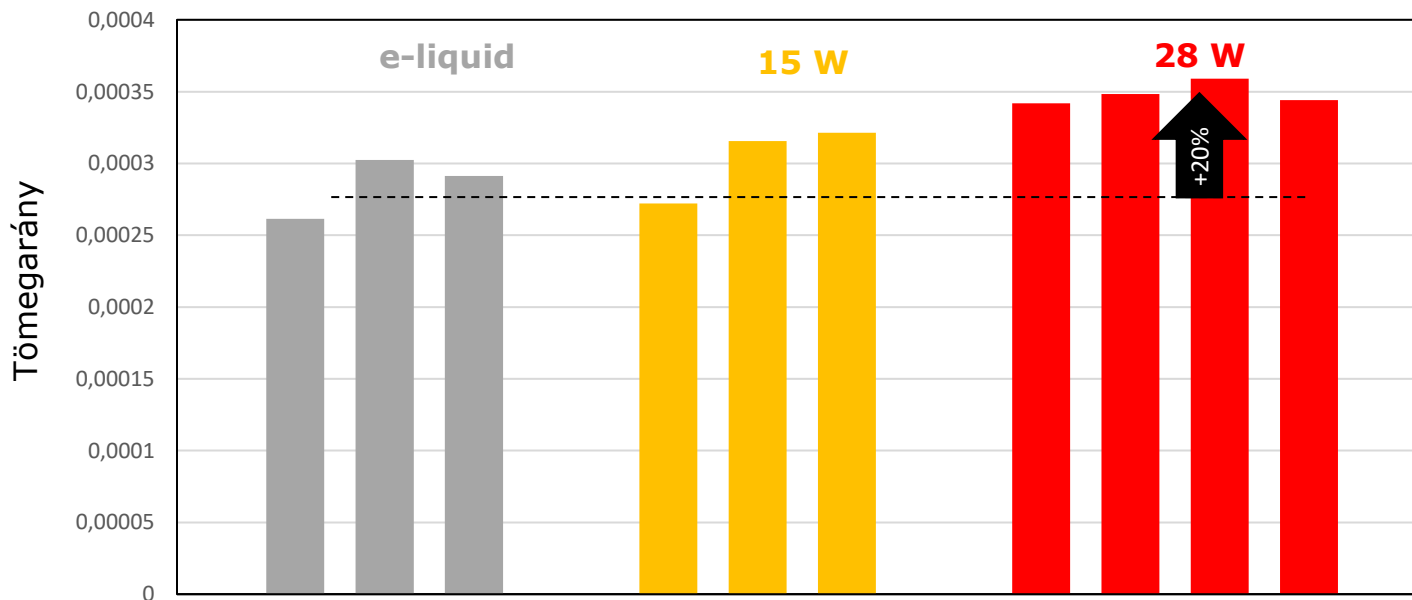


Nincs szignifikáns különbség a mért THC/CBD tömegarányban

- a „slukkok” hossza (5x4 / 5x8 másodperc),
- az elnyelő metanol térfogata (25/12,5 ml) hatására.
- Kettős elnyeletés: a második edényben nem detektáltunk CBD-t.

Eredmények – e-cigaretta

- THC/CBD tömegarány az e-liquidben: 0,028%.
- **15W**-os kazán: nem volt szignifikáns különbség.
- 28W-os kazán: szignifikáns eltérés (0,035%): az e-cigaretta alkalmazása során a CBD-tartalmú e-liquidből jelen méréseink szerint **kevesebb, mint 0,01%-ban** keletkezhet a CBD-ből THC.
- További tervek: THC-t egyáltalán nem tartalmazó, e-liquidhez hasonló összetételű oldat vizsgálata.



Összefoglalás

- A **CBD** fő metabolitja (CBD-COOH) kimutatható a kannabisz-fogyasztók zömének vérében, vizeletében.
- A CBD-COOH/THC-COOH-arány összefügg az elfogyasztott drog CBD/THC-arányával.
- A CBD-COOH/THC-COOH-arány értéke bizonyos határok között alkalmas a CBD-olajos védekezés cáfolatára vagy alátámasztására. A köztes arányértékek helyes értelmezésére további adatgyűjtés szükséges.
- A vizsgált e-liquid CBD-tartalmából a vizsgált *in vitro* rendszerben kevesebb, mint 0,01%-ban THC.

**Köszönjük a megtisztelő
figyelmet!**