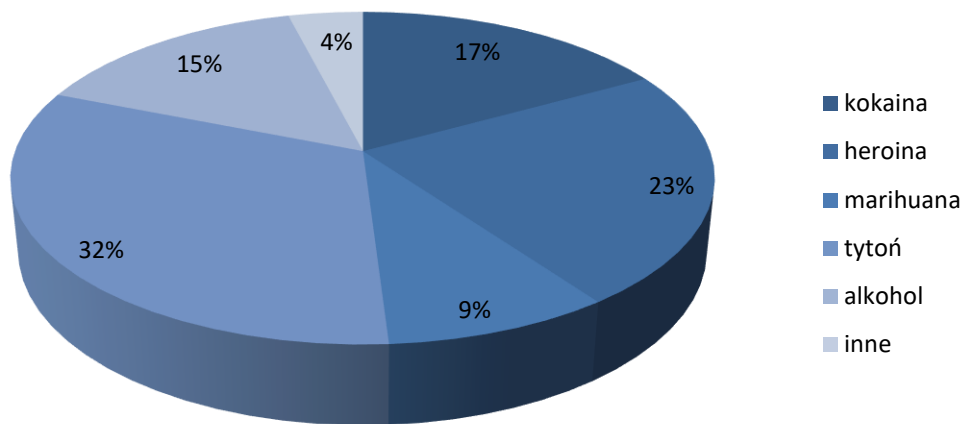


32 Skutkiem stosowania opioidów w celach terapeutycznych jest zmniejszenie odczuwania
33 bólu. Efektem ubocznym, nie mającym żadnego znaczenia klinicznego, jest uczucie euforii,
34 odurzenia, apatii, senności, czy błogostanu. Stany te są na tyle pożądane, że prowadzą do
35 silnego uzależnienia. Według szacunkowych danych Światowej Organizacji Zdrowia (*World*
36 *Health Organization* - WHO), wśród wszystkich dostępnych używek największy odsetek
37 uzależnionych sięga po tytoń (32%), heroinę (23%) oraz marihuanę (17%), co przedstawiono
38 na Rys. 1.

Potencjalne uzależnienie od rekreacyjnych używek



39

40 **Rys.1** . Wykres przedstawiający potencjalne uzależnienie od używek według WHO

41

42 Pozakliniczna konsumpcja opioidów może wywoływać różne reakcje w zależności od
43 dawki, stopnia uzależnienia, celu używania, osobniczej wrażliwości, czy opcjonalnego
44 łączenia opioidów z innymi substancjami psychoaktywnymi. Szczególnie niebezpieczne są
45 substancje z grupy syntetycznych opioidów, głównie fentanyl oraz jego analogi, ze względu
46 na nieporównywalnie większą siłę działania w stosunku do heroiny. Liczba śmiertelnych ofiar
47 na skutek zatrucia fentanylem w stosunku do przedawkowania heroiny w 2014 roku była
48 dwukrotni większa. Popularność fentanylu wynika głównie z jego łatwiejszej dostępności
49 oraz bardziej przystępnej ceny niż było to jeszcze kilka lat temu. Nierzadko zdarza się, że
50 osoby uzależnione celowo dokonują samookaleczenia, np. poprzez łamanie palców, w celu
51 wyłudzenia recepty na syntetyczne opioidy. Najczęściej stosowane leki w celach klinicznych
52 zestawiono w Tabeli 1.

Tabela 1 . Charakterystyka wybranych leków opioidowych

Substancja	Dawkowanie (na kg m.c.)	Siła działania	Czas działania	Maksymalne działanie [min]	Skutki uboczne
Morfina	5-10 mg	1	3-5 h	30	bradykardia, spadek ciśnienia
Fentanyl	1-5 µg	100	20-45 min	5	depresja ośrodka oddechowego
Sufentanyl	0,3-5 µg	1000	30 min	3	spadek ciśnienia
Remifentanyl	0,05-1 µg	100	5 min	1	szttywność mięśni szkieletowych
Alfentanyl	10-30 µg	30	10-15 min	1	zaburzenia hormonalne
Petydyna	0,5-1 mg	0,1	2-4h	15	zaburzenia oddychania

54

55 Wykrywanie i oznaczanie syntetycznych opioidów

56 Obecne statystyki wskazują, że dostępność nielegalnych syntetycznych opioidów na
57 rynku narkotykowym oraz związane z nią śmiertelne zatrucia jest znacznie zaniżona ze
58 względu na trudności z ich oznaczaniem, głównie w materiale biologicznym. Istnieje problem
59 w identyfikacji związków wskutek bardzo dynamicznej zmiany ich struktur chemicznych,
60 ciągłej zmiany psychoaktywności substancji oraz braku komercyjnie dostępnych wzorców
61 certyfikowanych. Dzięki dostępności dużych ilości pochodnych fentanylu, nadużycia
62 syntetycznych opioidów rozwinęły się w problematykę zdrowia publicznego. W związku z
63 faktem, że syntetyczne opioidy, a zwłaszcza analogi fentanylu, wykazują działanie w dużo
64 mniejszych dawkach w porównaniu do klasycznych narkotyków, a moc ich działania jest
65 bardzo silna, część użytkowników nieświadomie spożywa te substancje jako zanieczyszczenia
66 w heroinie, bądź środkach przeciwbólowych. Substancje macierzyste lub ich metabolity są
67 zatem obecne w materiale biologicznym na poziomie nanogramów lub nawet femtogramów.
68 Jedną z konsekwencji takiego zjawiska jest możliwość braku wykrycia związków z grupy
69 syntetycznych opioidów, ponieważ rutynowe oznaczanie tych substancji jest rzadko
70 wykonywane i wymaga dedykowanych metod analitycznych z dostatecznie dużą czułością i
71 swoistością. Opracowanie technik analitycznych do oznaczania syntetycznych opioidów w

72 konwencjonalnych i niekonwencjonalnych materiałach biologicznych ma bardzo duże
73 znaczenie i istnieje potrzeba identyfikacji zarówno substancji macierzystej, jak i jej
74 metabolitów oraz korelacji wyniku oznaczenia z danymi klinicznymi.

75 Dobór odpowiedniej metody analitycznej do oznaczania syntetycznych opioidów
76 powinien uwzględniać takie aspekty jak ocena kliniczna i poznawcza, a także zakres badań
77 diagnostycznych. Obecnie do tego celu wykorzystuje się głównie techniki
78 immunoenzymatyczne i fluorescencyjne, które znajdują zastosowanie przeważnie w
79 laboratoriach szpitalnych. Pomimo faktu, że obie metody charakteryzują się łatwością
80 przygotowania próbek, wydają się być niewystarczające głównie ze względu na małą
81 swoistość. Główna wada związana jest z możliwością występowania reakcji krzyżowych, tj.
82 niespecyficzności reagowania pewnych związków farmakologicznych i ich metabolitów oraz
83 silnym wpływem składników matrycy. W związku z tym, zachodzi konieczność opracowania
84 nowych metodyk oznaczania syntetycznych opioidów, również ze względu na szybkość
85 pojawiania się innych związków stanowiących ich strukturalne modyfikacje oraz bardzo
86 niewielkie stężenia, które powodują efekt odurzenia. Badania przesiewowe mogą obejmować
87 zarówno testy kolorymetryczne oraz metody immunochemiczne. Jednakże, w przypadku
88 oznaczeń ilościowych potrzeba bardziej czułych i selektywnych technik. W praktyce
89 laboratoryjnej wykorzystuje się głównie metody chromatograficzne, zarówno chromatografię
90 ciekową (LC) jak i chromatografię gazową (GC), zazwyczaj sprzężone ze spektrometrią mas.
91 Obie te techniki są powszechnie stosowane w rutynowych oznaczeniach toksykologicznych i
92 kryminalistycznych. Wymagają one jednak etapu izolacji i wzbogacania analitów z matrycy
93 biologicznej. Najczęściej etap ten jest osiągnięty z wykorzystaniem ekstrakcji typu ciecz-ciecz
94 (LLE) lub ekstrakcji do fazy stałej (SPE). W Tabeli 2 zebrano wybrane informacje dotyczące
95 obecnych trendów oznaczania syntetycznych opioidów oraz technik przygotowania próbek
96 jako przegląd obecnej literatury.

97 **Tabela 2.** Wybrane metody oznaczania syntetycznych opioidów wraz z parametrami
98 walidacyjnymi w próbkach materiału biologicznego

Anality	Technika analityczna	Kolumna	Ekstrakcja	Faza ruchoma	Zakres liniowości	LOD	LOQ	Odzysk [%]	Niedokładność [%]	Precyzja [%]
KREW										
alfentanyl	LC-UV/Vis	Econosphere CV	LLE	A: 0,01 M diwodorofosforan B: ACN	0,002 – 2 (µg/ml)	0,25	2,0	86,3	-	<10
alfentanyl	LC-MS/MS	Genesis C 18	LLE	A: 5 mM octan amonu B: ACN	0,05 – 250	0,05	-	-	10	12
p-fluorofentanyl					0,1 – 60	0,06	0,1		16	11
cis-3-metylofentanyl					0,03 – 300	0,02	0,03		18	16
trans-3-metylofentanyl					0,04 – 80	0,04	0,04		16	10

α -metylofentanyl					0,03 – 50	0,01	0,03		13	9
remifentanyl					0,2 – 30	0,05	0,2		5	6
sufentanyl					0,2 – 200 (μ g/L)	0,2	–		6	3
acetylfentanyl akrylofentanyl butylofentanyl furanylofentanyl ocfentanyl remifentanyl	UHPLC- QTOF/MS	HSS C18	PP	A: 5 mM mrówczan amonu B: ACN + 0,1% FA	0,5 – 500 (μ g/kg)	0,5	–	79	<20	–
acetylfentanyl	GC-MS	Zebron ZB- 5MS	LLE	–	100 – 1000 (ng/ml)	50	100	–	–	–
acetylfentanyl	UHPLC- MS/MS	Biphenyl	SPE	A: 10 mM mrówczan amonu + 0,01% FA + woda B: MeOH	0,001 – 0,1 (mg/L)	–	0,001	102	\leq 11	\leq 9
acetylfentanyl	UHPLC- MS/MS	BEH T3	LLE	A: woda+0,1% FA B: ACN + 0,1% FA	0,5 – 100 (ng/ml)	–	–	–	–	–
acetylfentanyl	GC-MS LC-MS/MS	DB5-MS Hypersil Gold	SPE	A: 10 mM octan amonu B:MeOH	0,5 – 1 (μ g/mL)	–	–	–	–	–
acetylfentanyl	GC-MS	RTX-1-ms	LLE	–	125-2000 (ng/ml)	0,06	0,125	–	\leq 20	<7
acetylfentanyl	UHPLC-Ion Trap-MS	Acclaim RSCL 120C18	SPE	A: 2 mM mrówczan amonu + 0,1% FA + 1% ANC B2 mM mrówczan amonu + 0,1% FA + ACN	0,001 – 5,0 (ng/mL)	0,2	–	–	<20	–
β - hydroksyfenta nyl						0,1				
butylofentanyl						0,2				
karfentanyl						0,1				
furanylofentanyl						0,5				
p- fluorobutyrofe ntanyl						0,5				
U-47700						0,5				
acetylfentanyl	LC-MS/MS	Kinetex F5	SPE	A:0,1% FA B: ACN + 0 ,1% FA	0,1 – 4,0 (ng/mL)	–	0,1	–	<10	<25
karfentanyl									<15	<20
furanylofentanyl									<10	<15
3- metylofentanyl									<10	<25
akrylofentanyl	GC-MS UHPLC- MS/MS	DB-1MS BEH C18	SPE PP	A: 0,1 % FA B: ACN + 0,1 % FA	0,10 – 20 (ng/mL)	0,05	0,1	–	<10	<10
akrylofentanyl	LC-MS/MS	BEH Phenyl	LLE	A: 10 mM mrówczan amonu + 0,05% FA B: MeOH + 0,05% FA	0,01 – 10 (ng/g)	–	–	>80,0	<10	–
akrylofentanyl 4- chloroisobutyrylofentanyl 4- fluoroisobutyrylofentanyl tetrahydrofuranilofentanyl	LC-MS/MS	BEH C18	Rozcieńczanie	A: 0,1% FA B: ACN	0,5 – 1000 (ng/mL)	<0,5	0,5	–	–	–
butylofentanyl 4- fluorobutyrofe	LC-MS/MS	BEH C18	Rozcieńczanie	A: 0,1% FA B: ACN	0,5 – 1000 (ng/mL)	–	0,5	–	–	–



ntanyl										
butyrofantanyl	GC-MS	Zebtron ZB-5MS	LLE	-	10 – 250 (ng/mL)	2,0	10,0	-	-	-
butyrofantanyl	UHPLC-MS/MS	Biphenyl	SPE	A: 10 mM mrówczan amonu + woda + 0, 1% FA B: MeOH	1 – 100 (ng/mL)	-	1,0	-	≤20	<15
furanyl-karfentanylfentanyl	GC-MS	Rtx-5	LLE	-	-	-	-	-	-	-
karfantanylcis-3-metylofantanyl	LC-MS/MS	Genesis C18	PP	A: 2 mM octan amonu B:ACN	0,10 – 10 (ng/mL)	0,03	0,1	-	-	-
cis-3-metylofantanyltrans-3-metylofantanyl	LC-MS/MS	Genesis C18	LLE	A: 10 mM octan amonu B: ACN	-	-	-	-	-	-
furanylfentanyl	LC-MS/MS	Eclipse C18	SPE	A: woda + 0,01% FA B: MeOH + 0,01% FA	1 – 100	0,5	1,0	-	<10	-
U-47700					1 – 500					
U-50488					1 – 500 (ng/mL)					
furanylfentanyl	LC-MS/MS	BEH Phentyl	LLE	A:10 mM, mrówczan amonu + 0,05 % FA B: MeOH + 0,05 % FA	0,2 – 7,5 (ng/mL)	-	-	>50,0	≤25	<25
4-fluorobutyrylfentanyl	GC-MS LC-MS/MS	Rxi-5Sil MS Hypersic RP C18	LLE	A: 0,05 M mrówczan amonu + 0,2 M FA B: ACN	20 – 5000 (ng/mL)	7,0	12,0	-	-	-
ocfantanyl	LC-MS/MS	Kinetex C8	LLE	A: 5 mM octan amonu B: ACN	2,5 – 50 (µg/mL)	-	-	-	-	-
ocfantanyl	UHPLC-MS/MS	HSS C18	LLE	A: 2 mM mrówczan amonu + woda + 0,02 % FA B: MeOH	2,1 – 21,0 (µg/mL)	-	2,1	87,6	<10	<10
remifentanyl	LC-MS/MS	Pecosphere C18	PP-LLE	A:2 mM octan amonu B: ACN	0,1 – 50 (ng/mL)	-	-	76,0	<10	≤10
remifentanyl	GC-NPD	BPX-5	SPE	-	0,2 – 100 (ng/mL)	-	0,2	82,3	-	<15
remifentanyl	LC-MS	X-Terra C8	LLE	A:woda, MeOH, ACN B: ACN + 0,1% FA	0,96 – 48 (ng/mL)	0,18	0,5	105,6	-	<10
sufentanyl	LC-MS/MS	Nucleosil CC	LLE	A:0,02 % kwas trifluorooctowy, woda B: ACN	10 – 500 (pg/mL)	3,0	10,0	-	<15	<15
sufentanyl	LC-MS/MS	Supelcosil LC-C18-DB	SPE	ACN + woda + 0,2 % kwas trifluorooctowy	0,3 – 2,0 (ng/mL)	-	0,3	98,9	<10	<15
U-47700	UHPLC-MS/MS	HSS T3	PP	A: 10 mM octan amonu + 0,1% FA B: ACN	-	-	-	-	-	-
U-47700	GC-MS	Zebtron ZB-5MS	LLE	-	20 – 500 (ng/mL)	5,0	20,0	-	-	-

U-47700	HPLC-DAD LC-MS/MS HPLC- QTOF-MS	Synergi Fusion Gemini Zorbax Eclipse Plus C18	LLE	A: bufor fosforanu trietyloamoni owego (pH=3) B:aACN A: woda + 1% FA B: ACN + 1% FA	-	-	-	-	-	-	
AH-7921	GC-MS	-	LLE	-	0,05 – 2,0 (mg/L)	-	-	-	-	-	
MOCZ											
alfentanył	LC-MS/MS	Xterra MS C18	LLE	A: octan amONU + woda B: octan amONU + woda + ACN	0,010 – 10,0 (ng/mL)	0,024	-	83,0	<20,0	< 20,0	
karfentanył						0,003			98,0	<10,0	< 10,0
3- metylofentanył						0,006			98,0	<20,0	< 10,0
α - metylofentanył						0,006			92,0	<15,0	≤20,0
sufenentyl						0,009			114,0	<10,0	<10,0
alfentanył	LC-MS/MS	Genesis C18	LLE	A: octan amONU (pH=3,2) B:ACN	0,05 – 80	0,05	-	-	0,0	7,0	
p- fluorofentanył					0,30 – 60	0,30			4,0	5,0	
cis-3- metylofentanył					0,02 – 300	0,02			3,0	5,0	
trans-3- metylofentanył					0,04 – 80	0,04			5,0	5,0	
α - metylofentanył					0,03 – 20	0,01			2,0	7,0	
remifentanył					0,20 – 90	0,05			10,0	5,0	
sufenentyl					0,20 – 200 (μ g/L)	0,20			5,0	5,0	
acetylfentanył	GC-MS	Zebtron ZB- 5MS	LLE	-	100 – 1000 (ng/mL)	-	-	-	-	-	
acetylfentanył	UHPLC- MS/MS	Biphenyl	SPE	A:20 mM nrówezan amONU + woda + 0,1 % FA B: MeOH	-	-	-	-	-	-	
acetylfentanył	UHPLC- MS/MS	BEH T3	LLE	A: woda + 0,1 % FA B: ACN + 0,1 % FA	0,50 – 100 (ng/mL)	-	-	-	-	-	
acetylfentanył	GC-MS	DB5-MS	SPE	-	-	-	-	-	-	-	
acetylfentanył	GC-MS	RTX-1-ms	LLE	-	-	-	-	-	-	-	
butryfenantyl	GC-MS	Zebtron ZB- 5MS	LLE	-	-	-	-	-	-	-	
butryfenantyl	UHPLC- MS/MS	Biphenyl	SPE	A: 10 mM nrówezan amONU + woda + 0,1% FA, B: MeOH	-	-	-	-	-	-	
AH-7921	GC-MS	DB-5MS	LLE	-	-	-	-	-	-	-	
U-47700	GC-MS	Zebtron ZB- 5MS	LLE	-	-	-	-	-	-	-	
U-47700	UHPLC- MS/MS	HSS T3	PP	A: 10 mM octan amONU + 0,1 % FA B: ACN	-	-	-	-	-	-	
U-47700	LC-MS/MS	Poroshell 120	SPE	A: 5 mM octan amONU + 0,01% FA B: 0,01% FA	1,0 – 2500 (ng/mL)	1,0	1,0	-	<15	<10	



				+ MeOH						
furanylfentanyl	UHPLC-QTOF-MS	HSS C18	LLE	A: 5 mM mrówczan amonu B: ACN	0,25 – 50 (ng/mL)	–	0,25	–	20,0	<15
furanylfentanyl	LC-HRMS	Zorbax Extend C18	Rozcieńczenie	A: woda + 0,1% FA B: ACN	–	–	–	–	–	–
ocfentanyl	LC-MS/MS	Kinetex C8	LLE	A: 5 mM octan amonu B: ACN	–	–	–	–	–	–
ocfentanyl	UHPLC-MS/MS	HSS T3	LLE	A: woda + 2 mM mrówczan amonu + 0,2 % FA B: MeOH	–	–	–	–	–	–
butryfenantyl 4-fluorobutyrofantanyl	LC-MS/MS	BEH C18	Rozcieńczenie	A: woda + 0,1% FA B: ACN	0,5 – 1000 (ng/mL)	–	0,5	–	–	–
4-fluorobutyrofantanyl	GC-MS LC-MS/MS	Rxi-5Sil MS Hypersil RP C18	LLE	A: 0,05 M mrówczan amonu + 0,02 M FA B: ACN	20 – 5000 (ng/mL)	7,0	12,0	–	–	–
<i>cis</i> -3-metylofantanyl <i>trans</i> -3-metylofantanyl	LC-MS/MS	Genesis C18	LLE	A: octan amonu (bufor) B: ACN	–	–	–	–	–	–
akrylofantanyl 4-chloroisobutyrylfentanyl 4-fluoroisobutyrylfentanyl tetrahydrofuranilfantanyl	LC-MS/MS	BEH C18	Rozcieńczenie	A: woda + 0,1% FA B: ACN	–	–	–	–	–	–
acetylfentanyl β-hydroksyfentanyl butryfenantyl karfantanyl furanylfentanyl p-fluorobutyrofantanyl U-47700	UHPLC-Ion Trap-MS	Acclaim RSLC 120 C18	SPE	A: 2 mM mrówczan amonu + 0,1% FA + woda + 1% ACN B: 2 mM mrówczan amonu + 0,1% FA + 1% wody w ACN	–	–	–	–	–	–

99

100 LC-MS – chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas

101 LC-UV/Vis - chromatografia cieczowa sprzężona z detektorem spektrofotometrycznym UV-VIS

102 LC-MS/MS – chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas

103 UHPLC-QTOF/MS - ultrasprawną chromatografią cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas czasu przelotu

104 GC-MS – chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas

105 UHPLC-MS/MS – ultrasprawną chromatografią cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (typu

106 potrójny kwadrupol)



107 **UHPLC-Ion Trap-MS** – ultrasprawna chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (typu pułapka
108 jonowa)

109 **GC-NPD** – chromatografia gazowa sprzężona z detektorem azotowo-fosforowym

110 **HPLC-DAD** - wysokosprawna chromatografia cieczowa sprzężona z detektorem wielodiodowym

111 **HPLC-QTOF-MS** – wysokosprawna chromatografia cieczowa sprzężona z kwadrupolowym spektrometrem
112 mas

113 **LLE** – ekstrakcja w układzie ciecz - ciecz

114 **SPE** – ekstrakcja do fazy stałej

115 **ACN** – acetonitryl

116 **MeOH** – metanol

117 **FA** – kwas mrówkowy

118

119 **Podsumowanie**

120 Opisane metodyki oraz wyniki z analiz próbek rzeczywistych pokazują, że techniki
121 oznaczania syntetycznych opioidów w materiale biologicznym muszą być stale aktualizowane
122 w celu uwzględnienia nowo pojawiających się związków. Obecnie używane metody i techniki
123 analityczne wykorzystywane do wykrywania i oznaczania pochodnych fentanylu opierają się
124 głównie na technikach chromatograficznych połączonych z tandemową spektrometrią mas, co
125 pozwala na uzyskanie maksymalnej czułości i selektywności oraz identyfikację polarnych
126 metabolitów, które mogą być obecne w płynach ustrojowych. Jednakże, uwzględniając fakt
127 ciągłego pojawiania się nowych związków z grupy syntetycznych opioidów, głównym
128 ograniczeniem metodyk opartych na technikach chromatograficznych jest mała dostępność
129 bibliotek widm opisywanych związków oraz wzorców analitycznych. Wobec powyższego,
130 niezbędne jest prowadzenie dalszych badań nad związkami z grupy syntetycznych opioidów
131 aby dokładniej kontrolować rozprzestrzeniania się tych niebezpiecznych dla zdrowia i życia
132 substancji.

133