

## 1 **Syntetyczne opioidy – najsilniejsze narkotyki.**

### 2 **Część 2. Metody wykrywania i oznaczania w różnych materiałach biologicznych**

3 *Laura Banaszekiewicz\**, *Mateusz Kacper Woźniak*, *Jacek Namieśnik*

4  
5 Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,

6 ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, Polska

7 \* [laura.banaszekiewicz@pg.edu.pl](mailto:laura.banaszekiewicz@pg.edu.pl)

#### 8 **Receptory opioidowe**

9 Opioidy endogenne jako naturalne substancje występujące w ludzkim mózgu odgrywają  
10 bardzo istotną rolę w zachowaniu, wyrażaniu emocji, poziomie motywacji, odporności na ból  
11 oraz wpływają na apetyt. Wyróżnia się 3 rodzaje opioidowych receptorów endogennych:

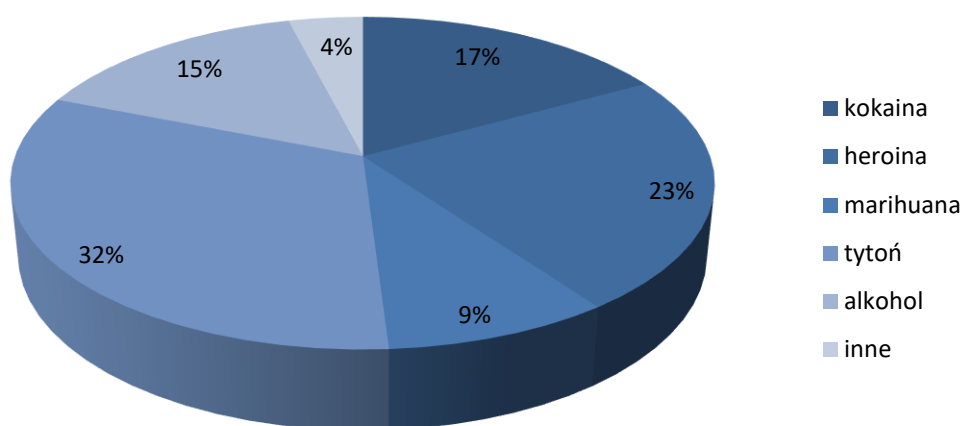
- 12 •  $\mu$  (receptory MOR) – aktywowane przez morfinę, wywołują euforię, analgezję i mogą  
13 prowadzić do depresji oddechowej,
- 14 •  $\kappa$  (receptory KOR) – aktywowane przez metopon, ketaminę, morfinę, mentol i  
15 oksykodon; pobudzone receptory KOR wywołują dysfориę, efekt przeciwbólowy i  
16 halucynogeny, sedację; przyczyniają się do zwiększenia apetytu, pobudzają wzrost  
17 prolaktyny (hormonu mającego wpływ na zdolność uczenia się). Aktywacja  
18 receptorów  $\kappa$  może powstrzymać przed uzależnieniem od kokainy, morfiny lub  
19 alkoholu ze względu na przeciwstawne skutki do receptorów  $\mu$ ,
- 20 •  $\delta$  (receptory DOR) – substancje wykazujące powinowactwo do tych receptorów  
21 działają antydepresyjnie, ich aktywacja prowadzi do zmniejszenia odczuwalności bólu  
22 jednak w znacznie słabszym stopniu jak w przypadku receptorów  $\mu$ .

23 Agonistami, czyli związkami pobudzającymi receptory opioidowe są opioidy, grupa  
24 substancji naturalnych, półsyntetycznych i syntetycznych. Do naturalnych opioidów zalicza  
25 się opiaty, które występują w maku i jego przetworach (opium), jak na przykład morfina i  
26 kodeina, które po odpowiedniej modyfikacji chemicznej, prowadzą do otrzymania  
27 półsyntetycznych opiatów – np. heroiny i oksykodonu. Do syntetycznych opioidów zaliczają  
28 się głównie silne leki przeciwbólowe, w tym: fentanyl, tramadol, metadon i buprenofrina.  
29 Używanie tych związków bez odpowiedniej opieki medycznej może prowadzić do zagrożenia  
30 życia i zdrowia.

#### 31 **Pozakliniczne stosowanie opioidów**

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<br>(na kg m.c.) | Siła<br>działania | Czas<br>działania | Maksymalne<br>działanie [min] | Skutki uboczne                  |
|---------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| <b>Morfina</b>      | 5-10 mg                    | 1                 | 3-5 h             | 30                            | bradykardia, spadek ciśnienia   |
| <b>Fentanyl</b>     | 1-5 µg                     | 100               | 20-45 min         | 5                             | depresja ośrodka oddechowego    |
| <b>Sufentanyl</b>   | 0,3-5 µg                   | 1000              | 30 min            | 3                             | spadek ciśnienia                |
| <b>Remifentanyl</b> | 0,05-1 µg                  | 100               | 5 min             | 1                             | szttywność mięśni szkieletowych |
| <b>Alfentanyl</b>   | 10-30 µg                   | 30                | 10-15 min         | 1                             | zaburzenia hormonalne           |
| <b>Petydyna</b>     | 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 cieczową (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 [%] |
|------------------------|----------------------|----------------|------------|--------------------------------------|-------------------|------|------|------------|-------------------|--------------|
| <b>KREW</b>            |                      |                |            |                                      |                   |      |      |            |                   |              |
| alfentanyl             | LC-UV/Vis            | Econosphere CV | LLE        | A: 0,01 M diwodorofosforan<br>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<br>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           |

|  |                          |                            |               |   |                            |      |       |       |           |          |
|--|--------------------------|----------------------------|---------------|---|----------------------------|------|-------|-------|-----------|----------|
| $\alpha$ -metylofentanyl   |                          |                            |               |   | 0,03 – 50                  | 0,01 | 0,03  |       | 13        | 9        |
| remifentanyl   |                          |                            |               |   | 0,2 – 30                   | 0,05 | 0,2   |       | 5         | 6        |
| sufentanyl   |                          |                            |               |   | 0,2 – 200<br>( $\mu$ g/L)  | 0,2  | –     |       | 6         | 3        |
| acetylfentanyl<br>akrylofentanyl<br>butylofentanyl<br>furanylofentanyl<br>ocfentanyl<br>remifentanyl               | UHPLC-<br>QTOF/MS        | HSS C18                    | PP            | A: 5 mM<br>mrówczan<br>amoni<br>B: ACN +<br>0,1% FA   | 0,5 – 500<br>( $\mu$ g/kg) | 0,5  | –     | 79    | <20       | –        |
| acetylfentanyl   | GC-MS                    | Zebron ZB-<br>5MS          | LLE           | –   | 100 – 1000<br>(ng/ml)      | 50   | 100   | –     | –         | –        |
| acetylfentanyl   | UHPLC-<br>MS/MS          | Biphenyl                   | SPE           | A: 10 mM<br>mrówczan<br>amoni +<br>0,01% FA +<br>woda<br>B: MeOH  | 0,001 – 0,1<br>(mg/L)      | –    | 0,001 | 102   | $\leq$ 11 | $\leq$ 9 |
| acetylfentanyl   | UHPLC-<br>MS/MS          | BEH T3                     | LLE           | A:<br>woda+0,1%<br>FA<br>B: ACN +<br>0,1% FA  | 0,5 – 100<br>(ng/ml)       | –    | –     | –     | –         | –        |
| acetylfentanyl   | GC-MS<br>LC-MS/MS        | DB5-MS<br>Hypersil<br>Gold | SPE           | A: 10 mM<br>octan amoni<br>B:MeOH   | 0,5 – 1<br>( $\mu$ g/mL)   | –    | –     | –     | –         | –        |
| acetylfentanyl   | GC-MS                    | RTX-1-ms                   | LLE           | –   | 125-2000<br>(ng/ml)        | 0,06 | 0,125 | –     | $\leq$ 20 | <7       |
| acetylfentanyl   | UHPLC-Ion<br>Trap-MS     | Acclaim<br>RSCL<br>120C18  | SPE           | A: 2 mM<br>mrówczan<br>amoni +<br>0,1% FA +<br>1% ANC<br>B2 mM<br>mrówczan<br>amoni +<br>0,1% FA +<br>ACN | 0,001 – 5,0<br>(ng/mL)     | 0,2  | –     | –     | <20       | –        |
| $\beta$ -<br>hydroksyfenta<br>nyl  |                          |                            |               |   |                            | 0,1  |       |       |           |          |
| butylofentanyl   |                          |                            |               |   |                            | 0,2  |       |       |           |          |
| karfentanyl  |                          |                            |               |   |                            | 0,1  |       |       |           |          |
| furanylofentanyl   |                          |                            |               |   |                            | 0,5  |       |       |           |          |
| p-<br>fluorobutyrofe<br>ntanyl   |                          |                            |               |   |                            | 0,5  |       |       |           |          |
| U-47700  |                          |                            |               |   |                            | 0,5  |       |       |           |          |
| acetylfentanyl   | LC-MS/MS                 | Kinetex F5                 | SPE           | A:0,1% FA<br>B: ACN + 0<br>,1% FA   | 0,1 – 4,0<br>(ng/mL)       | –    | 0,1   | –     | <10       | <25      |
| karfentanyl  |                          |                            |               |   |                            |      |       |       | <15       | <20      |
| furanylofentanyl   |                          |                            |               |   |                            |      |       |       | <10       | <15      |
| 3-<br>metylofentanyl   |                          |                            |               |   |                            |      |       |       | <10       | <25      |
| akrylofentanyl   | GC-MS<br>UHPLC-<br>MS/MS | DB-1MS<br>BEH C18          | SPE<br>PP     | A: 0,1 % FA<br>B: ACN +<br>0,1 % FA   | 0,10 – 20<br>(ng/mL)       | 0,05 | 0,1   | –     | <10       | <10      |
| akrylofentanyl   | LC-MS/MS                 | BEH Phenyl                 | LLE           | A: 10 mM<br>mrówczan<br>amoni +<br>0,05% FA<br>B: MeOH +<br>0,05% FA                                      | 0,01 – 10 (ng/g)           | –    | –     | >80,0 | <10       | –        |
| akrylofentanyl<br>4-<br>chloroisobutyrylofentanyl<br>4-<br>fluoroisobutyrylofentanyl<br>tetrahydrofuranilofentanyl | LC-MS/MS                 | BEH C18                    | Rozcieńczanie | A: 0,1% FA<br>B: ACN  | 0,5 – 1000<br>(ng/mL)      | <0,5 | 0,5   | –     | –         | –        |
| butylofentanyl<br>4-<br>fluorobutyrofe   | LC-MS/MS                 | BEH C18                    | Rozcieńczanie | A: 0,1% FA<br>B: ACN  | 0,5 – 1000<br>(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<br>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<br>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<br>B: ACN                             | -                  | -    | -    | -     | -   | -   |
| furanylfentanyl                            | LC-MS/MS          | Eclipse C18                 | SPE    | A: woda + 0,01% FA<br>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<br>B: MeOH + 0,05 % FA | 0,2 – 7,5 (ng/mL)  | -    | -    | >50,0 | ≤25 | <25 |
| 4-fluorobutyrylfentanyl                    | GC-MS<br>LC-MS/MS | Rxi-5Sil MS Hypersic RP C18 | LLE    | A: 0,05 M mrówczan amonu + 0,2 M FA<br>B: ACN              | 20 – 5000 (ng/mL)  | 7,0  | 12,0 | -     | -   | -   |
| ocfantanyl                                 | LC-MS/MS          | Kinetex C8                  | LLE    | A: 5 mM octan amonu<br>B: ACN                              | 2,5 – 50 (µg/mL)   | -    | -    | -     | -   | -   |
| ocfantanyl                                 | UHPLC-MS/MS       | HSS C18                     | LLE    | A: 2 mM mrówczan amonu + woda + 0,02 % FA<br>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<br>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<br>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 trifluoroocowy, woda<br>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 trifluoroocowy                     | 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<br>B: ACN                   | -                  | -    | -    | -     | -   | -   |
| U-47700                                    | GC-MS             | Zebtron ZB-5MS              | LLE    | -  | 20 – 500 (ng/mL)   | 5,0  | 20,0 | -     | -   | -   |

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



|  |                   |                             |               |  |                    |     |      |   |      |     |
|--|-------------------|-----------------------------|---------------|--|--------------------|-----|------|---|------|-----|
|  |                   |                             |               | + MeOH   |                    |     |      |   |      |     |
| furanylfentanyl  | UHPLC-QTOF-MS     | HSS C18                     | LLE           | A: 5 mM mrówczan amonu<br>B: ACN   | 0,25 – 50 (ng/mL)  | –   | 0,25 | – | 20,0 | <15 |
| furanylfentanyl  | LC-HRMS           | Zorbax Extend C18           | Rozcieńczenie | A: woda + 0,1% FA<br>B: ACN  | –                  | –   | –    | – | –    | –   |
| ocfentanyl   | LC-MS/MS          | Kinetex C8                  | LLE           | A: 5 mM octan amonu<br>B: ACN  | –                  | –   | –    | – | –    | –   |
| ocfentanyl   | UHPLC-MS/MS       | HSS T3                      | LLE           | A: woda + 2 mM mrówczan amonu + 0,2 % FA<br>B: MeOH  | –                  | –   | –    | – | –    | –   |
| butryfenantyl 4-fluorobutyrofantanyl   | LC-MS/MS          | BEH C18                     | Rozcieńczenie | A: woda + 0,1% FA<br>B: ACN  | 0,5 – 1000 (ng/mL) | –   | 0,5  | – | –    | –   |
| 4-fluorobutyrofantanyl   | GC-MS<br>LC-MS/MS | Rxi-5Sil MS Hypersil RP C18 | LLE           | A: 0,05 M mrówczan amonu + 0,02 M FA<br>B: ACN   | 20 – 5000 (ng/mL)  | 7,0 | 12,0 | – | –    | –   |
| <i>cis</i> -3-metylofantanyl<br><i>trans</i> -3-metylofantanyl   | LC-MS/MS          | Genesis C18                 | LLE           | A: octan amonu (bufor)<br>B: ACN   | –                  | –   | –    | – | –    | –   |
| akrylofantanyl 4-chloroisobutyrylfentanyl 4-fluoroisobutyrylfentanyl tetrahydrofuranilfantanyl             | LC-MS/MS          | BEH C18                     | Rozcieńczenie | A: woda + 0,1% FA<br>B: ACN  | –                  | –   | –    | – | –    | –   |
| acetylfentanyl β-hydroksyfentanyl butryfenantyl karfentanyl 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<br>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** – ultrasprawnna chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (typu pułapka  
108 jonowa)

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

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

111 **HPLC-QTOF-MS** – wysokosprawnna 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