SCREENING RAPIDO SUL CAMPO PER ANALOGHI DEL FENTANIL MEDIANTE MICROESTRAZIONE A SPIRALE E GC/MS PORTATILE

Introduzione

Negli ultimi anni c'è stato un aumento dei decessi legati all'uso e al consumo di oppiacei, una classe di farmaci antidolorifici prodotti sinteticamente simili agli oppiacei di origine naturale come morfina, oppio, codeina ed eroina. Se somministrati correttamente con i dosaggi corretti, gli oppioidi fungono da soluzioni ad azione rapida per la gestione del dolore grave e si sono guadagnati un posto nell'elenco dei medicinali essenziali dell'Organizzazione mondiale della sanità. [1] Sfortunatamente, il fattore ad alto rischio per la dipendenza fisica e le sensazioni euforiche che accompagnano entrambi, il possesso di droghe di tipo oppioide e oppiacei ha portato a un abuso e un abuso significativi su scala globale. Nel 2017, il World Drug Report delle Nazioni Unite ha dichiarato che in tutto il mondo una percentuale considerevole di decessi, così come il 70% delle malattie acquisite attraverso l'uso di droghe, sono stati attribuiti agli oppioidi. [2] La gravità di questo problema è diventata particolarmente evidente negli Stati Uniti, dove l'abuso di oppioidi farmaceutici, insieme a un aumento del consumo di eroina e fentanil, ha portato il tasso di mortalità a triplicare da 16.849 a 52.404 all'anno dal 1999 al 2015. [2]

Mentre l'abuso di oppiacei e oppiacei da prescrizione gioca un fattore significativo nell'epidemia in corso, il mercato degli oppioidi sta diventando più diversificato con un aumento di nuovi farmaci denominati nuove sostanze psicoattive (NPS). Le NPS sono prodotte in laboratori clandestini in tutto il mondo e sono state trovate in medicinali contraffatti fatti per essere assunti come prodotti farmaceutici mentre contengono analoghi del fentanil, nonché sostanze non oppioidi. [2] Farmaci contraffatti ed eroina sequestrati dopo overdose fatali sono stati trovati includere fentanil analoghi come acetil fentanil, 3-metilfentanil e il potentissimo oppioide carfentanil, un antidolorifico veterinario usato per animali di grossa taglia che è ~10.000 volte più forte della morfina. [3] Le variazioni di potenza e quantità di componenti attivi in pillole e polveri contraffatte è una minaccia per gli utenti, così come i primi soccorritori che sono esposti alle droghe nei laboratori clandestini e intercettati attraverso gli sforzi del traffico di droga. La gravità dell'epidemia di oppioidi richiede una soluzione analitica in grado di esaminare in modo sicuro droghe d'abuso confiscate e laboratori clandestini per la presenza di analoghi del fentanil. La gascromatografia-spettrometria di massa (GC/MS) è da decenni il "gold standard" per l'identificazione di sostanze controllate, in quanto consente la rilevazione di un'ampia gamma di analiti in diverse miscele di campioni. In genere i campioni preparati per GC/MS vengono raccolti in loco e trasportati in un laboratorio forense per l'analisi, ma questo processo può richiedere mesi a causa degli attuali arretrati dei casi e dei lunghi tempi di analisi (15 – 60 minuti) associati alle tradizionali unità da banco. [4, 5] Un approccio alternativo per ridurre il tempo tra la raccolta e l'analisi consiste nel portare il laboratorio sulla scena utilizzando la tecnologia GC/MS portatile con tecniche di campionamento rapido per acquisire risultati utilizzabili.

Questa applicazione dimostra l'uso delle nuove siringhe Custodion® Coiled Microextraction (CME) e del GC/MS portatile Torion® T-9 come strumento di screening rapido e facile da usare per droghe d'abuso e nuove sostanze psicoattive (NPS) sul campo. Qui di seguito riportiamo l'uso del GC/MS portatile Torion T-9 per lo screening di tre oppioidi (fentanyl, acetil fentanil e carfentanil) che si trovano comunemente nei laboratori clandestini, nonché agenti da taglio in farmaci contraffatti ed eroina. I dati acquisiti sono stati abbinati alla libreria dei farmaci Wiley Designer tramite il software Chromion, con un tempo di circa 8 minuti dalla raccolta del campione all'identificazione.

Custodion® Microestrazione a spirale

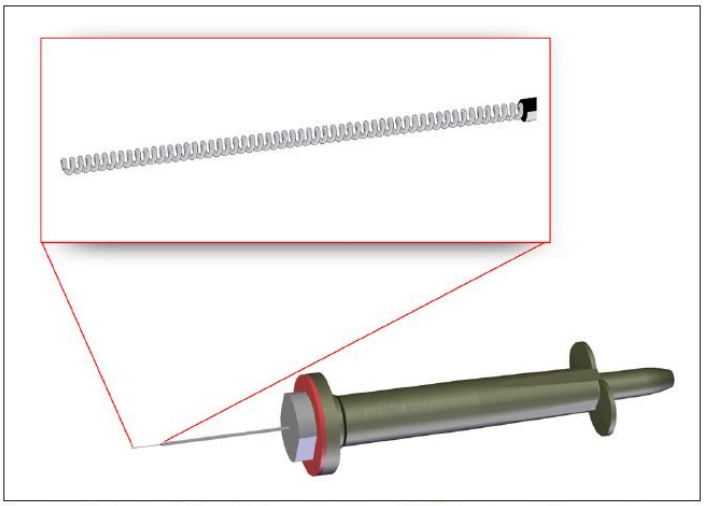

Figure 1. Custodion® Coiled Microextraction (CME) syringe with an extended coiled wire.

La microestrazione a spirale (CME) è una nuova tecnica di campionamento creata da PerkinElmer Inc. che combina la raccolta e la preparazione di campioni liquidi in un unico dispositivo per il campionamento di esplosivi e droghe d'abuso sul campo. Il filo arrotolato dentro la siringa Custodion-CME è costituita da un filo trattato inerziale che è finemente avvolto per intrappolare i campioni liquidi. Il design in plastica indurita dell'impugnatura Custodion con la semplicità di una penna a sfera retrattile consente agli utenti di distribuire il cavo CME con la facilità di un solo pulsante. Il design modesto e la punta smussata flessibile consentono agli utenti dotati di dispositivi di protezione individuale (DPI) di raccogliere liberamente campioni con una mano evitando i problemi di sicurezza di una tradizionale siringa appuntita.

Torion T-9 GC/MS portatile

Costruito per portabilità e analisi rapide, il GC/MS portatile Torion® T-9 fornisce le prestazioni cromatografiche equivalenti a un sistema da banco in una frazione del tempo. La tecnologia Torion integra un gascromatografo capillare a bassa massa termica (LTM) con uno spettrometro di massa toroidale miniaturizzato a trappola ionica per fornire un GC/MS veloce, affidabile e di facile utilizzo, riducendo al minimo il consumo di energia per operare sul campo. Con un peso totale di 32 libbre (14,5 kg) e una suite di dispositivi versatili per la raccolta dei campioni, il Torion T-9 viene utilizzato in loco per lo screening rapido di sostanze volatili e semivolatili ambientali (VOC/SVOC), droghe d'abuso, esplosivi, minacce chimiche e sostanze pericolose.

Procedura sperimentale

Preparazione del campione

Standard di grado analitico di fentanil, acetil fentanil, carfentanil ed eroina sono stati ottenuti da Cerilliant Corp. (Round Rock, TX, USA) a concentrazioni di 1,0 mg/mL. Campioni di laboratorio clandestini simulati di fentanil, acetil fentanil e carfentanil sono stati sintetizzati presso l'Università del Nord Texas (Denton, TX, USA). La raccolta e l'iniezione del campione sono state effettuate mediante una siringa Custodion-CME. Per gli standard analitici, è stata utilizzata una siringa a tenuta di gas per applicare 5 µL di soluzione direttamente

sul filo arrotolato e lasciata asciugare 3-5 minuti per garantire la ripetibilità. Per lo screening in loco dei materiali sintetizzati in laboratorio, i prodotti residui della vetreria sono stati diluiti in un solvente adatto (metanolo o acetonitrile). Una volta completamente dissolto, la punta del filo a spirale è stata estesa e immersa nella soluzione per 10 secondi come mostrato nella Figura 2. Il filo a spirale è stato rimosso dalla soluzione e lasciato asciugare 3-5 minuti per ridurre al minimo l'ingresso di solvente in eccesso nel sistema, prima dell'iniezione diretta in GC/MS per l'analisi.

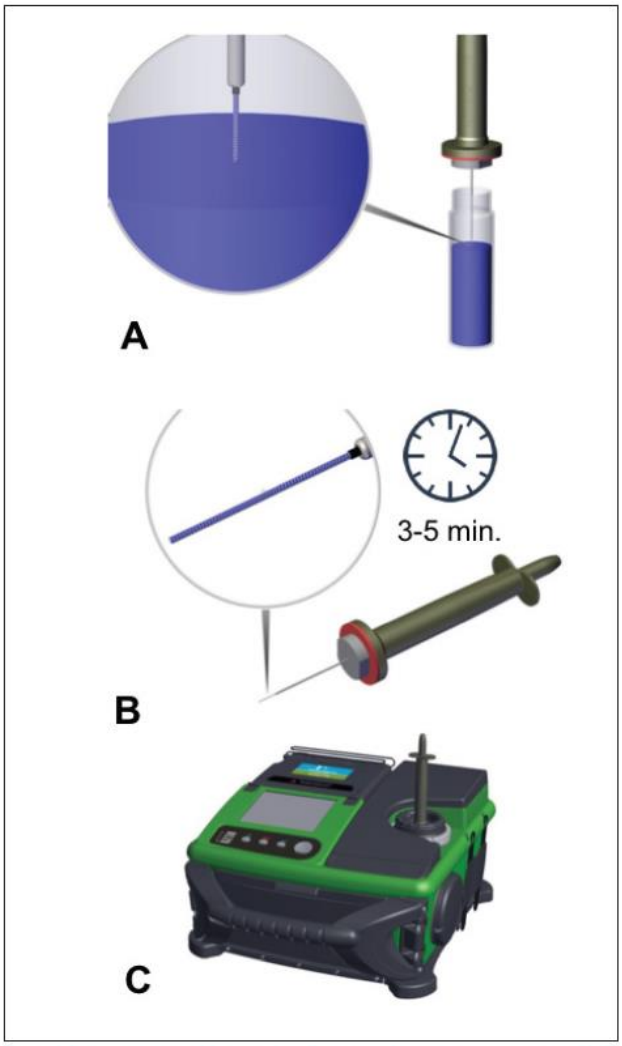

Figure 2. Representation of the sample collection and injection process using CME.

Risultati e discussione

La Figura 3 mostra l'analisi GC/MS del carfentanil in metanolo. Tutti i composti sono stati rilevati e identificati positivamente dal Torion T-9. Per identificare gli analoghi del fentanil, un algoritmo di deconvoluzione integrato è stato in grado di identificare e abbinare positivamente i dati MS alla libreria Wiley Designer Drug 2017.

Il metodo Torion T-9 CME-GC/MS ha raccolto, analizzato e identificato con successo i composti di interesse in scenari forensi rilevanti che coinvolgono eroina adulterata e analoghi del fentanil sintetizzati. La Figura 4 mostra l'analisi CME-GC/MS di una soluzione di eroina contenente il 5% di fentanil diluito in metanolo per dimostrare la capacità di screening delle soluzioni adulterate. La Figura 5A mostra l'analisi CME-GC/MS dei prodotti residui raccolti dalla vetreria utilizzata nella sintesi degli analoghi del fentanil preparati presso l'Università del North Texas. La post-elaborazione e la corrispondenza MS hanno portato all'identificazione del fentanil raccolto direttamente dalla vetreria di laboratorio. La Figura 5B mostra i dati MS confrontati con un riferimento NIST per evidenziare le differenze tra la trappola ionica toroidale e gli analizzatori di massa a quadrupolo. Le differenze nelle intensità dei picchi e la presenza dello ione pseudo-molecolare $[Fentanyl+H]^+$ a m/z 337 sono dovute a dissociazioni indotte da collisioni che si verificano negli analizzatori di massa a trappola ionica.

Table 1. GC/MS Method Parameters.

Sampling	Coiled Microextraction (CME)
Injection Type	Splitless
GC Injector Temp.	270 °C
GC Column	MXT-5, 5 m x 0.1 mm, 0.4 μm d_f
GC Column Temp.	50-300 °C at 2 °C/s, hold for 60 s
GC Carrier Gas	Helium, 0.2 mL/min.
Transfer Line Temp.	250 °C
Ionization Source	In-trap Electron Impact (EI)
Mass Analyzer	Toroidal Ion Trap
Mass Range	41 - 500 Da
Detector	Electron Multiplier
Resolution	< 0.5 m/z at 300 amu, nominal unit mass at 500 amu

Conclusioni

Fentanil, acetil fentanil, carfentanil ed eroina sono stati raccolti e identificati utilizzando siringhe Custodion Coiled Microextraction (CME) con il GC/MS portatile Torion T-9 in scenari di screening dei farmaci pertinenti. La tecnica CME-GC/MS abbinata alla Wiley Designer Drug Library ha fornito una rapida identificazione di droghe d'abuso e nuove sostanze psicoattive (NPS) in meno di otto minuti, con un approccio semplificato per ridurre al minimo l'interazione dell'utente da prove potenzialmente dannose e consentire selezione.

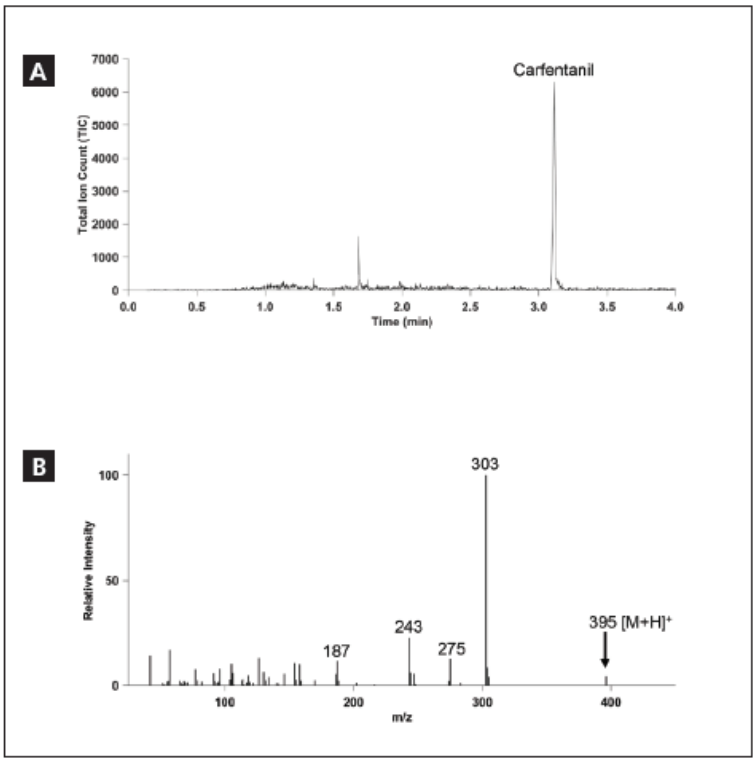

Figure 3. CME-GC/MS analysis of 100 mg/mL solution of carfentanil in methanol. (A) TIC of carfentanil. (B) Positive ion mass spectrum of carfentanil, showing the pseudomolecular ion at *m/z* 395.

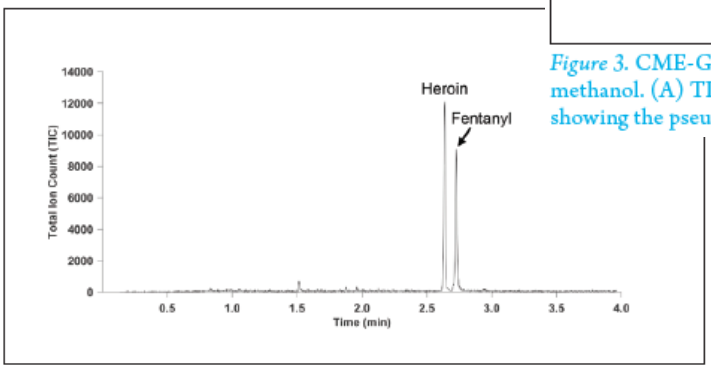

Figure 4. CME-GC/MS analysis of a heroin solution containing 5% fentanyl in acetonitrile.

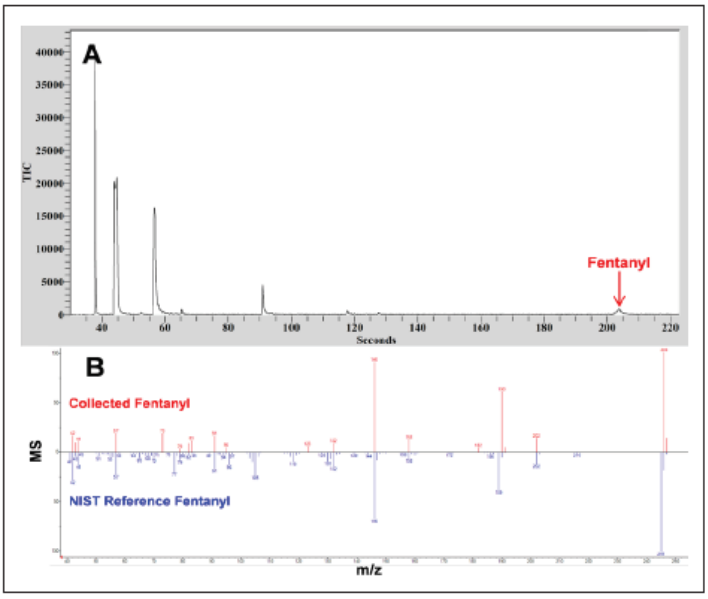

Figure 5. CME-GC/MS analysis of glassware used to synthesize fentanyl diluted in acetonitrile. (A) TIC of fentanyl and additional products from the fentanyl synthesis. (B) MS comparison between fentanyl collected with Torion T-9 (Blue) and NIST reference spectra (Red).

Bibliografia

[1] World Health Organization. Executive Summary The Selection and Use of Essential Medicines 2017; Geneva, 2017.

[2] United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report 2017: Global Overview of Drug Demand and Supply. In World Drug Report 2017; 2017; p 68.

[3] Marinetti, L. J.; Ehlers, B. J. A Series of Forensic Toxicology and Drug Seizure Cases Involving Illicit Fentanyl Alone and in Combination with Heroin, Cocaine or Heroin and Cocaine. J. Anal. Toxicol. 2014, 38 (8), 592–598.

[4] Quick, D.; Choo, K.-K. R. Impacts of Increasing Volume of Digital Forensic Data: A Survey and Future Research Challenges. Digit. Investig. 2014, 11 (4), 273–294.

[5] Science, N. A. of. Strengthening Forensic Science in the United States: A Path Forward; National Academies Press: Washington D.C., 2009.

QUANTANALITICA

Via Guido Rossa 14
23875 Osnago (LC) - Italy
Tel. +39 039 9280061
Fax. +39 039 9289636
info@quantanalitica.com
www.quantanalica.com