

## ORIENTAČNÍ TEST PŘÍTOMNOSTI DERIVÁTŮ FENTANYLOVÉ ŘADY METODOU TENKOVRSŤVÉ CHROMATOGRAFIE

ROMANA JELÍNKOVÁ<sup>a</sup>, IVANA MORAVCOVÁ<sup>b</sup> a PETR ŽUJA<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav ochrany proti zbraním hromadného ničení Vyškov, Univerzita obrany, Brno, Česká republika, <sup>b</sup> Centrum ochrany proti zbraním hromadného ničení, JCBRN Defence COE, Vyškov, Česká republika  
romana.jelinkova@unob.cz

Došlo 1.7.22, přijato 15.12.22.

Článek obsahuje informace o vlastnostech derivátů fentanylu a metodě určené k jejich jednoduché orientační identifikaci. K provedení experimentu byla záměrně zvolena metoda tenkovrstvé chromatografie, která je nejvhodnější metodou pro provedení rychlé analýzy odebraného vzorku v podmínkách provozu polní chemické laboratoře provozované Armádou České republiky. Na základě provedené experimentální práce bylo zjištěno, že jako nejvhodnější soustava pro identifikaci sledovaných derivátů fentanylu prostřednictvím metody TLC je soustava, kde stacionární fázi tvoří „oxid hlinitý 60 F254 neutral“ a mobilní fázi pak ethyl-acetát a hexan v poměru 7:3. Zjištěné poznatky jsou plně využitelné v praxi a budou zahrnuty mezi standardní operační postupy ke stanovení uvedeného typu látek v Polní převozní chemické laboratoři PPCHL-AL2/ch, a to zřejmě ve formě certifikované metodiky.

**Klíčová slova:** nové psychoaktivní substance, carfentanil, lofentanil, ocfentanil, thiofentanil, tenkovrstvá chromatografie

### Úvod

Skupina látek pod označením „nové psychoaktivní substance“ (NPS) se vyznačuje rozsáhlým spektrem účinků, ať už halucinogenních, tlumivých či stimulačních, na centrální nervovou soustavu organismu. Kromě skupin fenylethylaminů, syntetických kanabinoidů, katinonů, piperazinů, tryptaminů a dalších je odbornou veřejností již několik desítek let diskutována otázka nových syntetických opioidů (NSO), které byly v 60. letech minulého století syntetizovány původně za účelem nahrazení morfinu při zachování analgetických vlastností přípravků stávající pethidinové řady<sup>1,2</sup>. Syntetické opioidy jsou využívány především k léčbě chronické bolesti a jako anestetika při chirurgických výkonech v humánní i veterinární praxi. Do této skupiny jsou zahrnovány stovky analog fentanylu s různou účinností, v humánní medicíně jsou používány jeho deriváty alfentanil, remifentanil a sufentanil<sup>3,4</sup>, ve veterinární praxi nachází uplatnění převážně sufentanil a carfentanil<sup>5,6</sup>.

Další existující deriváty fentanylu jako např. acetyl-fentanil, akryloylfentanil,  $\alpha$ -ethylfentanil, 2-fluor-fentanil, butyrylfentanil, krotonylfentanil, cyklopropyl-fentanil, furanylfentanil, methoxyfentanil, ocfentanil, tetrahydrofuranylfentanil, valerylfentanil, 4-fluoroisobutyrylfentanil,  $\beta$ -hydroxythiofentanil, cis-3-methyl-fentanil, methakrylfentanil, trans-3-methylfentanil, 4-chlorisobutyrylfentanil, 4-fluorfentanil a další, jsou mnohdy nacházeny forenzní analýzou biologických mate-

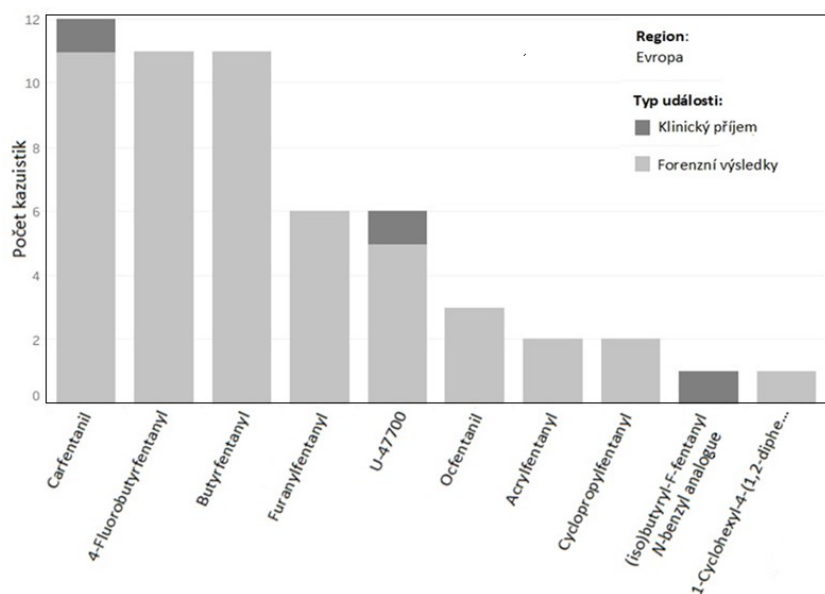
riálů u drogově závislých obětí, a to ve velmi nízkých koncentracích<sup>7-9</sup>.

Tyto látky jsou ve velké míře syntetizovány v nelegálních asijských laboratořích a prodávány prostřednictvím internetu, a to buď jako samostatné produkty, nebo ve směsi s dalšími psychoaktivními látkami, případně jsou distribuovány jako padělané opioidní léky. Tzv. opioidová krize, především ve Spojených státech amerických, je navíc umocněna vysokým a stále rostoucím počtem fentanylových i nefentanylových derivátů, obecně látek s vysokou afinitou vůči opioidním  $\mu$ -receptorům<sup>10,11</sup>.

Podle Úřadu OSN pro drogy a kriminalistiku (UNODC) jsou v Evropě hlášeny výsledky forenzních analýz a klinických nálezů nejčastěji užívaných opioidních látek; k datu 5. 5. 2022 figuruje na předním místě carfentanil (obr. 1)<sup>12</sup>.

K rychlé, orientační identifikaci vybraných derivátů fentanylu byla v tomto případě záměrně zvolena metoda tenkovrstvé chromatografie (TLC), a to vzhledem k tomu, že je vhodná k provedení poměrně rychlé analýzy odebraného vzorku v podmínkách provozu mobilní chemické laboratoře. Mobilní chemické laboratoře provozované Armádou ČR disponují speciálním sofistikovaným technickým vybavením, mají však také určitá provozní omezení ve srovnání se standardními stacionárními laboratořemi.

Mnohé psychoaktivní látky jsou vnímány jako vojensky významné; z tohoto důvodu je opodstatněná snaha vybavit laboratoře Armády ČR kromě modernějších analytických metod jejich stanovení i vhodnou metodikou na



Obr. 1. Kazuistika klinických a forezních nálezů fentanylových analog

bázi osvědčené jednoduché a finančně nenáročné TLC. Mezi zneschopňující psychotropní látky, tzv. kalmativa, jsou zařazeny i syntetické opioidy fentanylového typu, proto lze za určitých podmínek předpokládat i jejich možné vojenské či nevojenské zneužití k provedení kontaminace zájmového prostoru s následkem zneschopnění nebo usmrcení člověka.

### Vlastnosti vybraných derivátů

V současné době existují stovky derivátů fentanylu, známé též pod souhrnným označením „fentals“, přesto jsou podrobnější informace o jejich vlastnostech publikovány v minimální míře. Analoga fentanylové řady si bezesporu zaslouhují rozsáhlejší studium zaměřené at' už na doplnění vlastností látky, nebo na možnosti jejich rychlé a exaktní identifikace. Pro tuto studii byla vybrána dostupná analoga fentanylu, viz tabulka I, z nichž carfentanil, lofentanil a ocfentanil jsou zařazeny do Seznamu návykových látek podle nařízení vlády č. 463/2013 Sb.

Tabulka I  
Chemické názvy sledovaných analytů

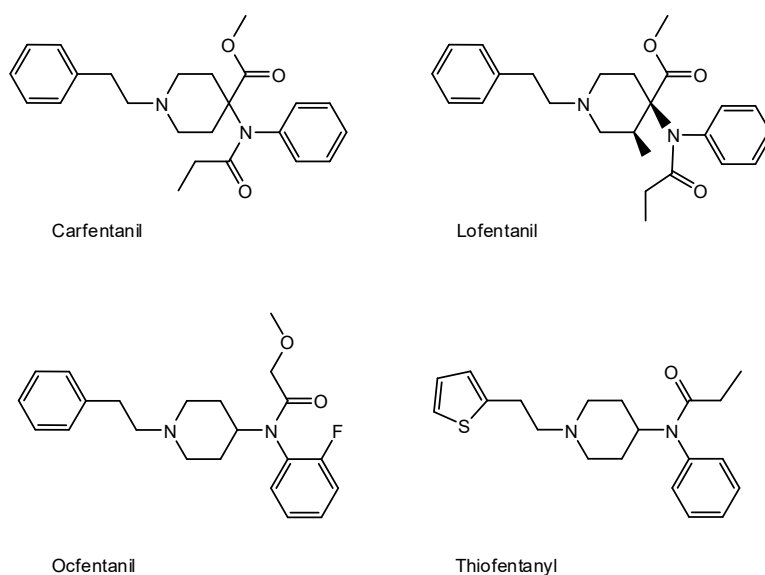
INN *	Chemický název podle IUPAC
Carfentanil	methyl-1-fenethyl-4-( <i>N</i> -fenylopropanamido)piperidin-4-karboxylát
Lofentanil	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )-3-methyl-1-(2-fenylethyl)-4-( <i>N</i> -propanoylanilino)piperidin-4-karboxylát
Ocfentanil	<i>N</i> -(2-fluorfenyl)-2-methoxy- <i>N</i> -[1-(2-fenylethyl)piperidin-4-yl]acetamid
Thiofentanil	<i>N</i> -{1-[2-( <i>thienyl</i> )ethyl]piperidin-4-yl}propanamid

\* INN (mezinárodní nechráněný název)

### Carfentanil

Carfentanil je uváděn jako nejúčinnější užívaný opioid, který byl syntetizován firmou Janssen-Pharmaceutical v roce 1974. V rámci vylepšení dosahovaného výtěžku syntézy byl postup modifikován a v roce 1992 byl produkt v USA patentován jako účinné analgetikum skupiny *N*-alkyl-4-substituovaných 4-piperidinylamidů pod číslem 5,106,983 (cit.<sup>13</sup>). Látka v pevném skupenství s chemickým vzorcem C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>3</sub>, dostupná jako analytický referenční materiál, má světle žlutou barvu a je dobře rozpustná v chloroformu, dichlormethanu a ethyl-acetátu.

V porovnání s morfinem dosahuje účinek carfentanilu až 10 000× vyšších hodnot. Ve veterinární praxi je využíván k tranquilizaci velkých zvířat, jako jsou sloni, nosorožci, hroši, medvědi a další. Pro účely v humánní medicíně není jeho používání s ohledem na nízký terapeutický index povoleno. Carfentanil je však ilegálně vyráběn a prodáván na tzv. „darknetu“, mnohdy ve směsi s heroinem nebo dalšími drogami<sup>14</sup>. Stejně jako ostatní opioidy vykazuje nežádoucí účinky jako miózu, bradykardii,



Obr. 2. Strukturální vzorce analog fentanylu

nauzeu, euforii, svědění, obstipaci. Smrt uživatelů při předávkování je způsobena rigiditou hrudního svalstva. Smrtná dávka nalezená v krvi obětí se pohybuje v rozsahu  $0,11\text{--}0,88\text{ ng ml}^{-1}$  (cit.<sup>15</sup>).

V Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze byly v 90. letech minulého století prováděny studie vlivu carfentanilu nejen na zvířata pražské ZOO, ale i na dobrovolníky z řad zdravotních sester. Bylo zjištěno, že prahová dávka carfentanilu u člověka je pouhých  $1\text{--}2\text{ }\mu\text{g}$  (cit.<sup>16</sup>).

#### Ocfentanil

Ocfentanil ( $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{FN}_2\text{O}_2$ ) byl poprvé popsán patentem z roku 1986. Látka byla získána za účelem získání opioidu s vyšším terapeutickým indexem v porovnání s fentanylem. V molekule ocfentanilu byla propionamidová skupina fentanylu nahrazena methoxyacetamidem a byla provedena adice fluoru na *N*-fenylový kruh<sup>17</sup>. Klinické studie analgetické aktivity u myší potvrdily cca  $2,5\times$  vyšší účinnost oproti fentanylu. Některé studie uvádějí, že dávka  $3\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  ocfentanilu vyvolaly u pokusných osob úroveň analgezie odpovídající  $5\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  fentanylu<sup>18,19</sup>.

#### Lofentanil

Lofentanil ( $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ ) je derivát podobný carfentanilu. V porovnání s carfentanilem vykazuje o něco vyšší účinky na organismus, ale vzhledem k jeho vysoké lipofilítě a delší době trvání účinku oproti ostatním derivátům fentanylu se k lékařským úkonům nepoužívá. V současné

době je s ohledem na bezpečnostní profil tohoto analgetika studován jeho vliv na  $\mu$ -receptory centrální nervové soustavy<sup>20–22</sup>. Studium účinnosti 5 derivátů fentanylu bylo zjištěno již v roce 1988 relativní pořadí míry analgetického epidurálního účinku u potkanů v pořadí od nejvyšších hodnot k nejnižším následovně: lofentanil, carfentanil, sufentanil, fentanyl, alfentanil<sup>23</sup>.

#### Thiofentanyl

Thiofentanyl ( $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{OS}$ ) je derivát fentanylu, který v humánní medicíně není dosud akceptován. V porovnání s morfinem je jeho analgetický účinek u hlodavců  $60\text{--}100\times$  vyšší<sup>24</sup>. V jeho syntéze je uplatněna reakce arylaminoskupiny *N*-fenyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-aminu s propanovou kyselinou, tudíž jeho struktura obsahuje kromě piperidinového kruhu a anilidové skupiny i thiofenovou část<sup>25,26</sup>. Vybrané vlastnosti derivátů jsou uvedeny v tabulce II.

### Tenkovrstvá chromatografie a další metody používané k analýze fentanylu a jeho analog

TLC je využitelná k rychlé a jednoduché analýze široké škály zájmových látek i optimalizaci separačních podmínek pro moderní kolonové chromatografické systémy. Princip metody spočívá v rozdělení jednotlivých látek mezi pohyblivou (mobilní) fázi rozpouštědla a pevnou (stacionární) fázi tenké vrstvy. K vyjádření míry změny koncentrace dané látky se užívá veličina zvaná adsorpční koeficient. Obvyklá velikost pórů sorbentů uží-

Tabulka II  
Vybrané vlastnosti sledovaných analytů

Vlastnosti látek	Carfentanil	Lofentanil	Ocfentanil	Thiofentanil
Molekulární hmotnost, g mol <sup>-1</sup>	394,5	408,5	370,5	342,5
Rozpustnost ve vodě (25 °C), mg l <sup>-1</sup>	4,21	0,67	–	–
pKa	8,05	8,36	–	–
LD <sub>50</sub> (iv. myš), mg kg <sup>-1</sup>	3,39	0,066	–	20

vaných v TLC jsou 4, 6, 8 a 10·10<sup>-3</sup> μm. Nejčastěji užívanou stacionární fází v tenkovrstvé chromatografii jsou silikagel a oxid hlinitý<sup>27,28</sup>.

Postupné zdokonalování materiálů průmyslově vyráběných tenkých vrstev umožňuje využití tenkovrstvé chromatografie i v podmínkách polní analýzy. Touto metodou byly dosud stanovovány bojové chemické látky v polní přenosné laboratoři PCHL-3 (cit.<sup>29</sup>) polské armády a TLC soupravou pro polní analýzu bojových chemických látek, výbušnin a drog disponuje Forensic Science Center v San Francisku, USA<sup>30</sup>.

V České republice byly k polní chemické kontrole vytvořeny metodické postupy identifikace vybraných bojových chemických látek jako např. sarinu, somanu, tabunu, yperitu, látky se střední těkavostí IVA, z psychotropních látek pak morfinu, codeinu, kokainu, látky BZ, fencyklidinu, skopolaminu, fytostigminu a některých dalších<sup>31</sup>. Vzhledem k dostupnosti standardů fentanylu a jeho analog jsou pro armádní mobilní chemickou laboratoř vyvíjeny metody s využitím jednoduché tenkovrstvé chromatografie v posledních letech<sup>32</sup>. Některé deriváty fentanylu byly metodou tenkovrstvé chromatografie zkoumány v civilní sféře; za použití Dragendorfova činidla a mobilní soustavy chloroform/benzen/methanol byly kromě fentanylu analyzovány např. jeho deriváty acetyl-fentanil, *p*-fluorfentanil, *p*-chlorfentanil, 3-methylfentanil a další<sup>33,34</sup>. K rychlému určování fentanylu využívají především policejní složky předběžně kvalitativní imunochemické testy s vyhodnocením zbarvení proužků testovacích souprav, např. rychlý orientační test německé firmy Nal von minden, původně vyvinutý ke kontrole biologických vzorků. Kontrola přítomnosti drogy se provádí i testy firmy ulti med Products (Deutschland) GmbH s uvedenou mezní hodnotou koncentrace kontrolované látky 200 ng ml<sup>-1</sup> a mnohé další jako např. kanadské firmy BTNX Inc. a Rapid Self Test Inc.<sup>35</sup>.

Tyto rychlé, finančně nenáročné a z hlediska nutnosti obsluhy jednoduché metody však nejsou vždy dostačující zejména pro potřebu identifikace konkrétní neznámé sloučeniny, proto jsou doplňovány či zcela nahrazovány sofistikovanějšími metodami, především kapalinovou nebo plynovou chromatografií ve spojení s hmotnostní spektrometrií<sup>35–38</sup>. Vybraná analoga fentanylu jsou ve stacionárních laboratořích Ústavu ochrany proti zbraním hromadného ničení Univerzity obrany analyzována též spektrálními metodami v oblasti UV/Vis a infračerveného záře-

ni<sup>39,40</sup>. Je však potřeba podotknout, že mnohé moderní přístroje jsou ideálně využitelné ve stacionárních chemických laboratořích; pro použití v podmínkách mobilních chemických laboratoří je nutno jejich využití zvážit především s ohledem na rozměry, hmotnost a robustnost potřebných přístrojových sestav a stanoveným omezením pro jejich provoz v terénních podmínkách.

## Experimentální část

### Chemikálie a příslušenství

Byly použity následující standardy: standard carfentanilu a lofentanilu ve formě bílého až světle žlutého prášku vyráběné firmou TRC Kanada, ocfentanilu hydrochloridu vyráběného firmou Chiron, a.s., a thiofentanilu hydrochloridu vyráběného firmou Chiron a.s., u nichž nebyla výrobcem uvedena čistota. Látky byly aplikovány na desky ve formě methanolových roztoků.

TLC byla prováděna na deskách Alufolien silica gel 60 F<sub>254</sub> a Alufolien aluminium oxid 60 F<sub>254</sub> neutral (Merck, Německo). Chemikálie použité pro přípravu mobilních fází a detekčních činidel měly čistotu p.a. pro UV nebo pro HPLC a byly vyrobeny firmami Penta, Lach:ner Česká republika, Merck, Německo a Sigma-Aldrich USA.

TLC byla prováděna na vybavení od firmy CAMAG, Švýcarsko sestávající z dělených kapilár určených k aplikaci 1 až 5 μl vzorku, dvouzhlábkových skleněných chromatografických komor, prohlížecího boxu vybaveného UV lampou a boxu pro postřík vzorků. Rozprašovač byl dodán firmou Desaga.

### Způsoby detekce látek vhodnými činidly

Použité chromatografické desky jsou nasyceny fluorescenčním indikátorem, což umožňuje zjištění polohy skvrn pomocí UV světla o vlnové délce 254 nm ještě před derivatizací vhodným činidlem.

Nejčastěji užívaným činidlem k detekci fentanylu a jeho derivátů je Dragendorffovo činidlo<sup>41</sup>, které s terciárními aminy poskytuje oranžově zbarvené skvrny na žlutém pozadí. Činidlo se připravuje ze dvou roztoků následujícího složení: Roztok I – 850 mg hydroxid-dusičnanu bismutitého se rozpustí v 40 ml vody a přidá se 10 ml octové kyseliny. Roztok II – 8 g jodidu draselného

se rozpustí ve 20 ml vody. Oba roztoky se smíchají a v hnědé lahvi jsou stálé několik měsíců. Pro postřík se smísí 10 ml zásobního roztoku s 20 ml koncentrované octové kyseliny a 100 ml vody.

Dalším vhodným způsobem detekce je postřík kombinací roztoků síranu měďnatého a jodidu draselného<sup>42</sup>. Řádně vysušená deska se postříká okyseleným 0,3 M CuSO<sub>4</sub> (k 100 ml roztoku přidány 3 kapky koncentrované kyseliny sírové) a poté 0,3 M KI. Výsledkem jsou oranžovo-hnědé skvrny na tyrkysovém pozadí, je-li jako sorbent použit silikagel; v případě oxidu hlinitého jsou skvrny zbarveny modročerně a pozadí je nažloutlé.

#### Pracovní postupy

Pro TLC byly použity chromatografické desky o rozměrech 10 × 10 cm. Desky byly před použitím promyty methanolem, vysušeny a aktivovány při teplotě 100 °C. Analyty byly nanášeny ve formě methanolového roztoku na start umístěný 1 cm od okraje desky.

Chromatografické komory byly syceny po dobu 10 min parami vybrané mobilní fáze. Desky s nanesenými

látkami byly v nasycené komoře kondicionovány 10 min a poté vyvíjeny, dokud čelo mobilní fáze nedosáhlo vzdálenosti 8 cm od startu.

Po vyjmutí a důkladném vysušení vyvinutých desek byla prováděna detekce analytů. Nejprve byla poloha skvrn posouzena pozorováním pod UV lampou při vlnové délce 254 nm a následně byly desky postříkány zvoleným detekčním činidlem. Barevné skvrny byly bezprostředně po postříku označeny a byly změřeny a zaznamenány R<sub>f</sub> jednotlivých látek.

#### Výsledky a diskuse

V práci bylo prověřeno celkem 12 vyvíjecích soustav. V šesti případech byl stacionární fází Silikagel 60 F<sub>254</sub> v kombinaci s danou mobilní fází (tab. III), v dalších šesti byl sorbentem oxid hlinitý (tab. IV). U jednotlivých vyvíjecích soustav byla posuzována především kvalita rozdělení derivátů (tj. rozdílnost jejich R<sub>f</sub>) a dále byl sledován čas potřebný k vyvinutí chromatogramu.

Tabulka III

Přehled mobilních fází při použití stacionární fáze Silikagel 60 F<sub>254</sub> (Merck)

	Mobilní fáze	t <sub>R</sub> <sup>a</sup> [min]	Retenční faktor analytů (R <sub>f</sub> )			
			Carfentanil	Lofentanil	Ocfentanil	Thiofentanil
1	Benzen – ethanol (8:2)	12	0,53	0,59	0,43	0,54
2	Hexan – ethanol (8:2)	10	0,20	0,30	0,09	0,24
3	Ethyl-acetát – methanol – amoniak (30:3:0,5)	11	0,51	0,61	0,40	0,55
4	Chloroform – aceton – amoniak (20:10:0,3)	12	0,48	0,61	0,44	0,54
5	Ethyl-acetát – ethanol (9:1)	12	0,33	0,53	0,18	0,34
6	Acetonitril – ethanol (9:1)	9	0,15	0,28	0,10	0,14

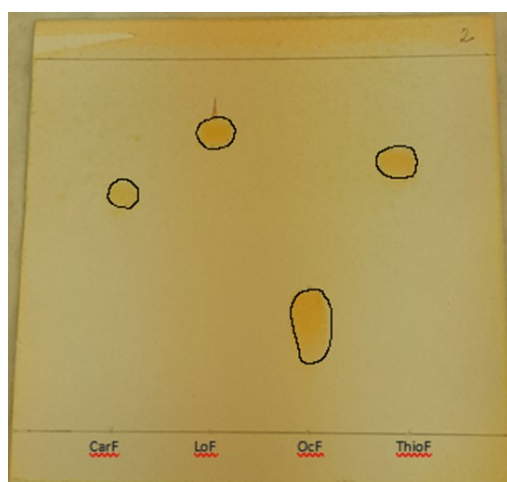
<sup>a</sup> t<sub>R</sub> = doba vyvíjení chromatogramu

Tabulka IV

Přehled mobilních fází při použití stacionární fáze Oxid hlinitý 60 F<sub>254</sub> neutral (Merck)

	Mobilní fáze	t <sub>R</sub> <sup>a</sup> [min]	Retenční faktor analytů (R <sub>f</sub> )			
			Carfentanil	Lofentanil	Ocfentanil	Thiofentanil
1	Ethyl-acetát	8	0,66	0,80	0,41	0,73
2	Ethyl-acetát – hexan (7:3)	8	0,61	0,79	0,30	0,70
3	Cyklohexan – butanol (8:2)	20	0,89	0,91	0,83	0,90
4	Ethyl-acetát – cyklohexan – methanol (5:4:1)	9	0,81	0,84	0,78	0,84
5	Acetonitril – hexan (7:3)	10	0,70	0,85	0,51	0,79
6	Aceton – hexan (7:3)	7	0,83	0,88	0,71	0,84

<sup>a</sup> t<sub>R</sub> = doba vyvíjení chromatogramu



Obr. 3. Chromatogram analytů s použitím stacionární fáze Oxid hlinitý 60 F<sub>254</sub> a mobilní fáze ethyl-acetát – hexan (7:3)

Z hodnot uvedených v tabulce III je zřejmé, že se při použití stacionární fáze Silikagel 60 F<sub>254</sub> nepodařilo ani v jednom případě jednotlivé analyty uspokojivě rozdělit. Analyty carfentanil a thiofentanil dosahují téměř ve všech uvedených soustavách velmi podobných R<sub>f</sub>. Nejlepší výsledky poskytují mobilní fáze č. 3 a 4, nicméně ani tady není rozdíl R<sub>f</sub> chromatografovaných analytů zcela dostatečný.

Nejlepšího dělení bylo dosaženo při použití stacionární fáze oxid hlinitý 60 F<sub>254</sub> neutral pomocí mobilní fáze ethyl-acetát – hexan 7:3 (2), která umožňuje spolehlivé rozlišení monitorovaných derivátů fentanylu na základě rozdílných R<sub>f</sub>.

Velmi dobré výsledky na stacionární fázi Oxid hlinitý 60 F<sub>254</sub> poskytovala též mobilní fáze acetonitril – hexan 7:3 (v tabulce IV číslo řádku 5); i tady bylo dosaženo dostatečně velkých rozdílů mezi R<sub>f</sub> jednotlivých analytů.

Po vyvinutí chromatogramu ve vybraných soustavách byla testována citlivost UV detekce u obou výše zmíně-

ných detekčních činidel s ohledem na použité sorbenty (tab. V).

Zatímco u UV detekce nehraje zvolený sorbent prakticky žádnou roli a mez detekce je s výjimkou thiofentanylu stejná, v případě obou činidel je naopak rozdíl v hodnotách meze detekce zřejmý. Pro soustavy, kde je stacionární fází silikagel, se jako vhodnější jeví činidlo složené ze síranu měďnatého a jodidu draselného. Dobře viditelné skvrny se objevují hned po postřiku a mez detekce přítomných analytů je 250 ng, u thiofentanylu 100 ng. Stejně činidlo vykazuje na oxidu hlinitém vyšší mez detekce, přičemž skvrny jednotlivých analytů se objevují až po chvíli, cca do 1 minuty. Oproti tomu Dragendorffovo činidlo poskytuje výrazně lepší výsledky u soustav se stacionární fází tvořenou oxidem hlinitým.

Z výsledků je patrné, že se při použití silikagelu jako stacionární fáze nepodařilo dosáhnout dostatečně velkého rozdílu R<sub>f</sub> zkoumaných analytů. Carfentanil a thiofentanil opakovaně dosáhly téměř stejné vzdálenosti od startu, což znemožňuje jejich rozdělení na základě R<sub>f</sub>. Nejlepších dělicích schopností bylo dosaženo u mobilní fáze ethyl-acetát – methanol – amoniak (30:3:0,5), ale ani tady nebyl rozdíl mezi R<sub>f</sub> carfentanilu a thiofentanylu dostatečný.

Při vyvíjení, kde byl jako sorbent použit oxid hlinitý, bylo dosaženo nejlepších výsledků u mobilní fáze ethyl-acetát – hexan (7:3). Jednotlivé deriváty vykazovaly dostatečně velké rozdíly R<sub>f</sub> a příznivá byla i doba vyvíjení chromatogramu (8 min). U této mobilní fáze byla dále testována její stabilita po dobu 7 dní. Po celý čas sledování se R<sub>f</sub> sledovaných analytů neměnily.

Mez detekce prováděné pomocí UV světla (254 nm), zjišťované vizuálně, kdy byla skvrna jasně patrná, se pohybovala okolo jednoho mikrogramu u všech analytů s výjimkou thiofentanylu (750 ng). Z vybraných činidel poskytovaly nejlepší výsledky síran měďnatý v kombinaci s jodidem draselným (na silikagelu) a Dragendorffovo činidlo (na oxidu hlinitém). V obou případech dosáhla mez detekce hodnoty 250 ng pro carfentanil, lofentanil a ocfentanil a 200 ng (Dragendorff na oxidu hlinitém), resp. 100 ng (CuSO<sub>4</sub> + KI na silikagelu) pro thiofentanyl.

Tabulka V

Hodnoty meze detekce analytů na stacionárních fázích

Sorbent	Analyty	Mez důkazu [ng]		
		UV 254 nm	Dragendorff	CuSO <sub>4</sub> + KI
Silikagel 60 F <sub>254</sub>	Carfentanil	1000	500	250
	Lofentanil	1000	500	250
	Ocfentanil	1000	500	250
	Thiofentanyl	750	250	100
Oxid hlinitý 60 F <sub>254</sub> neutral	Carfentanil	1000	250	1000
	Lofentanil	1000	250	750
	Ocfentanil	1000	250	1000
	Thiofentanyl	500	200	250

Na základě získaných výsledků (dělicích schopností, času vyvíjení a stability MF) byla jako nejvhodnější pro identifikaci sledovaných derivátů fentanylu pomocí TLC vybrána soustava, kde stacionární fázi tvoří „Oxid hlinitý 60 F<sub>254</sub> neutral“ a mobilní fáze se skládá z ethyl-acetátu a hexanu v poměru 7:3.

## Závěr

V práci byly prověřeny možnosti využití TLC pro rychlé určení vybraných sloučenin fentanylového typu v podmínkách polní analýzy. Byly vypracovány optimalizované postupy identifikace jednotlivých analytů a vytvořen návrh systému dělení látek založeného na kombinaci jednoduchých chromatografických soustav a detekčních činidel.

Přestože je v současné době TLC na moderních pracovištích již opomíjena a ve většině stacionárních chemických laboratořích je chromatografická analýza nahrazena sofistikovanými přístroji, stále zaujímá v polní analýze s využitím mobilní chemické laboratoře PPCHL – AL2/ch podstatnou roli v případě nutnosti provedení polní analýzy neznámých vzorků a identifikace zájmových vojensky významných chemických látek pro operační účely.

## LITERATURA

- Stanley H. T., Egan D. T., van Aken H.: *Anesthetic Pharmacol.* 106, 2 (2008).
- Vardanyan R. S., Hraby V. J.: *Future Med. Chem.* 6, 385 (2014).
- Sridharan K., Sivaramkrishnan G: *Curr. Clin. Pharmacol.* 14, 2 (2019).
- Jongyoon B., Dang J. P., Jun O. K., Minhyum K., Do Y. K., Eun K. Ch.: *Children* 9, 606 (2022).
- Hedenqvist P., Edner A., Fahlman Å., Jensen-Waern M.: *BMC Vet. Res.* 9, 21 (2013).
- EMCCDA. Carfentanil. Risk Assessment. (2019). [https://www.emcdda.europa.eu/publications/risk-assessments/carfentanil\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/publications/risk-assessments/carfentanil_en), staženo 15. dubna 2021.
- WHO. Fifth WHO–UNODC Expert Consultation on New Psychoactive Substances Addressing the challenges of non-medical use of opioids. Meeting Report. Geneva, 2018. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333385/WHO-EMP-2018.05-eng.pdf>, staženo 26. srpna 2022.
- EMCDDA. Europol Joint Report on a new psychoactive substance: 2-methoxy-*N*-phenyl-*N*-[1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl]acetamide (methoxyacetylfentanyl). Joint Reports. ISSN 1977-7868. [https://www.emcdda.europa.eu/publications/joint-reports/methoxyacetylfentanyl\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/publications/joint-reports/methoxyacetylfentanyl_en), staženo 10. listopadu 2021.
- Misalidi N.: *Forensic Toxicol.* 36, 12 (2018).
- Mann B.: National Headlines. <https://www.npr.org/sections/health-shots/2021/04/22/989833102/overdose-deaths-surged-in-pandemic-as-more-drugs-were-laced-with-fentanyl>, staženo 6. srpna 2021.
- Au-Yeung, C., Blewett, L. A.: *Am. J. Public Health*, 109,2:260-262 (2019). doi: 10.2105/AJPH.2018.304789, staženo 9. prosince 2021.
- UNODC. The searchable database of the UNODC Early Warning Advisory. 2022. <https://www.unodc.org/unodc/en/scientists/ewa/data.html>, staženo 23. dubna 2022.
- <https://patentimages.storage.googleapis.com/0e/2c/3a/952e9e2a33e107/US5106983.pdf>, staženo 16. května 2022.
- Zawilska J. B., Kuczyńska K., Kosmal W., Markiewicz K., Adamowicz P.: *Forensic Sci. Int.* 320, 110715 (2021).
- Frisoni P.: *Brain Sci.* 10, 485 (2020).
- Hess L.: *Remedia.* 27, 582 (2017).
- Bilel S., Neto A. J., Arfè R., Tirri M., Gaudioac R. M., Fantinati A., Bernardi T., Boccuto F., Marchetti B., Corli G., Serpelloni G., De-Giorgio F., Malfacini D., Trapella C., Calo G., Marti M.: *Neuropharmacology* 209, 109020 (2022).
- Dussy F. E.: *J. Anal. Toxicol.* 40, 761 (2016).
- Fletcher J. E.: *Anesth. Analg.* 73, 622 (1991)
- Qu Q., Huang W., Aydin D., Paggi M. J., Seven B. A., Wang H., Chakraborty S. Che T., DiBerto F. J., Robertson J. M., Asuka A., Roth L. B., Majumdar S., Dror O. R., Kobilka K. B., Skiniotis G.: *BioRxiv*. 2021, doi: <https://doi.org/10.1101/2021.12.07.471645>
- Hess L.: *Remedia.* 21, 270 (2011).
- Xie B., Goldberg A., Lei S.: *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 20, 2309 (2022).
- Meert T. F.: *Eur. J. Anaesthesiol.* 5, 313 (1988).
- WHO Expert Committee on Drug Dependence. Twenty sixth Report. Geneva. (1989). [https://www.drugsandalcohol.ie/3759/1/WHO\\_Expert\\_committee\\_26th\\_report.pdf](https://www.drugsandalcohol.ie/3759/1/WHO_Expert_committee_26th_report.pdf), staženo 29. března 2021.
- Taghizadeh J. M., Hosseini J. S., Moosavi S. M., Parsa H.: *J. Heterocycl. Chem.* (2020). <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jhet.3983>, staženo 16. března 2021.
- Thiofentanyl hydrochloride. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiofentanyl\\_hydrochloride#section=Structures](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiofentanyl_hydrochloride#section=Structures), staženo 23. června 2022.
- Čůta F.: *Instrumentální analýza*. 1. vyd. SNTL, Praha 1986.
- Jordánová E.: *Porovnání účinnosti preparativní HPLC a TLC. Bakalářská práce*. Západočeská univerzita v Plzni, Plzeň 2013.
- Středa L.: Zpráva ze služební cesty do PLR k úkolu „Protichemická ochrana – vojenský provozní výzkum“. VÚ 070, Brno (1989). Dostupné na Univerzitě obrany.
- Heller A.: Forensic science center - Maximizes the tiniest clue. Forensic Science Center: Lawrence Livermore National Laboratory. 2002. <https://>

- www.llnl.gov/str/Andresonhi.html, staženo 28. března 2014.
31. Skaličan Z., Halámek E., Koblíha Z.: *J. Planar Chromatogr.* 10, 208 (1997).
  32. Moravcová I.: *Tenkovrstvá chromatografie toxických vojensky významných sloučenin. Disertační práce.* Univerzita obrany v Brně, Brno 2014.
  33. Suzuki S., Inoue T., Kashima C.: *Chem. Pharm. Bull.* 3, 1340 (1986).
  34. Suzuki S., Ohta H., Ogasawara K.: *J. Anal. Toxicol.* 4, 280 (1999).
  35. Skov-Skov Bergh, M., Leere Øiestad Å. M., Baumann M. H., Bogen Il. L.: *Int. J. Drug Policy* 90, 103065 (2021).
  36. Jelínková R., Hrdlička J.: *XXIII. Mezinárodní konference o separační chemii a analýze toxických látek, 1. – 2. listopadu 2021, Sborník přednášek (bez editora), str. 52.* Institut ochrany obyvatelstva, Lázně Bohdaneč 2022.
  37. Riches R. J., Robert W. R., Black M R., Cooper J. N., Timperley M. C.: *J. Anal. Toxicol.* 9, 647 (2012).
  38. Noble, C., Papsun M. D., Diaz S., Logan K. B.: *Emerg. Trends Drugs Addict. Health* 2 (2021).
  39. Jelínková R., Koblíha Z., Halámek E.: *The Science for Population Protection* 2, 1803 (2018).
  40. Jelínková R., Kaněčka J.: *Trestně právní a kriminalistické aspekty dokazování, Praha, 25. listopadu 2021, Sborník přednášek (Bruna E., Straus J., ed.) str. 43.* VŠFS, a.s., Praha 2022.
  41. Musumarra G.: *J. Anal. Toxicol.* 7, 286 (1983).
  42. Stadnichenko E. I.: *Farmatsiya* 2, 52 (1991).

**R. Jelínková<sup>a</sup>, I. Moravcová<sup>b</sup>, and P. Žuja<sup>a</sup>** (<sup>a</sup> *Institute of Protection against Weapons of Mass Destruction, Vyškov, University of Defence, Brno, Czech Republic,* <sup>b</sup> *Centre of Protection against Weapons of Mass Destruction, Vyškov, Czech Republic*): **Orientation Test for the Presence of Fentanyl Derivatives by Thin-Layer Chromatography**

The article contains information on the properties of fentanyl derivatives and a method for their simple orientation identification. Thin-layer chromatography (TLC) was deliberately chosen to perform the experiment because it is the most suitable method for rapid analysis of the collected sample under the conditions of the field chemical laboratory operated by the Army of the Czech Republic. On the basis of the experimental work performed, it was found that the most suitable system for the identification of the fentanyl derivatives of interest by TLC is a system where the stationary phase consists of "alumina 60 F254 neutral" and the mobile phase is comprised of ethyl acetate and hexane in a ratio of 7:3. The findings are fully usable in practice and will be included in the standard operating procedures for the determination of these types of substances in the Field Transport Chemical Laboratory PPCHL-AL2/ch, most likely in the form of a certified methodology.

**Keywords:** new psychoactive substances, carfentanil, lofentanil, ocfentanil, thiofentanyl, thin-layer chromatography