

Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de fentanil e seus análogos em amostras de sangue seco em papel (DBS)

Júlia M. M. Kahl*, Kelly F. da Cunha, Prof. Dr. José Luiz da Costa

Resumo

O consumo mundial de opióides sintéticos de forma abusiva tem apresentado um aumento considerável, sendo este grupo o responsável, nos últimos dois anos, por 4 em cada 5 óbitos relacionados ao uso de drogas. Este grupo de drogas contempla (entre outras substâncias) o fentanil e seus análogos estruturais, que foram aplicados a técnica de sangue seco em papel (DBS), analisados e validados em LC-MS/MS e, posteriormente, terão suas estabilidades estudadas por um período de 180 dias.

Palavras-chave:

Fentanil, DBS, LC-MS/MS.

Introdução

O fentanil é um analgésico sintético usado para induzir e manter anestésias e sedações, sendo um fármaco de elevada potência, chegando a ser 80 vezes mais potente que a morfina. Diversos casos de intoxicações graves ou mesmo mortes por overdose causadas por estas substâncias têm sido descritos na literatura recente, o que justifica a necessidade do desenvolvimento de estratégias analíticas que permitam a identificação e quantificação deste tipo de substância em exames toxicológicos. Visto isso, o objetivo do trabalho é desenvolver um método baseado em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) para determinação de fentanil, 9 análogos e 2 metabólitos, em amostras de sangue seco em papel (*dried blood spot*, DBS). Objetiva ainda de estudar a estabilidade destas substâncias em DBS, com a hipótese de que esta técnica de armazenamento aumenta a estabilidade das substâncias em análise.

Resultados e Discussão

Soluções de trabalho dos analitos, em concentrações crescentes, foram preparadas para fortificar amostras de sangue branco. Uma alíquota de 15 µL do sangue fortificado foi adicionada em um disco de DBS (Figura 1) previamente perfurado (6 mm) e deixado secar, em temperatura ambiente, por 3 horas. A extração das amostras foi feita com 300 µL de metanol contendo padrão interno (fentanil-d5 e norfentanil-d5, 0,25 ng/mL) e agitação em ultrassom por 5 min. Do solvente extrator, 250 µL foi evaporado (N₂), reconstituído com 100 µL de H₂O/MeOH (80:20) e 2 µL foi injetado no sistema LC-MS/MS (LCMS 8060, Shimadzu, Japão). O método está sendo validado seguindo as recomendações da *Scientific Working Group for Forensic Toxicology* (SWGTOX).

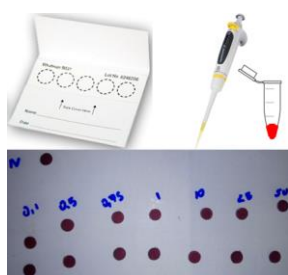


Figura 1. Preparo das amostras de DBS.

Foram realizados 3 dias de validação até o momento. O método se apresentou linear na faixa de concentração entre 0,1 e 50 ng/mL ($r > 0.992$, $1/x^2$), com valores de precisão e exatidão para os controles de qualidade (CQ) baixo (0,3 e 1,5 ng/mL), médio (5 ng/mL) e alto (40 ng/mL) dentro dos $\pm 20\%$ recomendados. A recuperação apresentou uma média de 52% e o efeito matriz máximo foi de -25%.

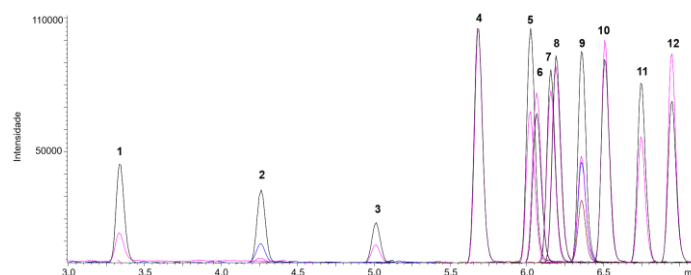


Figura 2. Cromatograma da amostra de DBS a 1,5 ng/mL (CQ baixo). 1 acetil norfentanil; 2 norfentanil; 3 remifentanil; 4 acetilfentanil; 5 thiofentanil; 6 alfentanil; 7 fentanil; 8 carfentanil; 9 furanilfentanil; 10 acrilfentanil; 11 sufentanil; 12 valerilfentanil.

Conclusões

O método para determinação de fentanil e análogos em DBS tem se apresentado preciso e confiável. A validação será finalizada e os testes de estabilidade para armazenamento dos controles baixo e alto à 25, 4 e -20 °C por 180 dias serão realizadas.

Agradecimentos



¹ SWGTOX Standard practices for method validation in forensic toxicology. *J Anal Toxicol.* 2013;37(7):452-74.

² Volkow ND, Collins FS. The Role of Science in Addressing the Opioid Crisis. *New Eng J Med.* 2017;377(4):391-4.