

## INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZA FENTANYLU A JEHO DERIVÁTŮ

## THE INSTRUMENTAL ANALYSIS OF THE FENTANYL AND ITS DERIVATIVES

Romana Jelínková

Univerzita obrany, Kounicova 65, 662 10 Brno, Česká republika

Korespondující autor. e-mail: [romana.jelinkova@unob.cz](mailto:romana.jelinkova@unob.cz), tel.: +420 973 452 322

## Abstrakt

V příspěvku jsou obsaženy informace o agonisticky působící opioidní látce anilidopiperidinového typu s názvem fentanyl a jeho vybraných derivátech, chemických a fyzikálních vlastnostech těchto sloučenin, způsobech využití v klinické a vojenské praxi a rovněž o možnostech jejich stanovení spektrálními a chromatografickými metodami v současné době jak ve stacionární, tak v polní převozní chemické laboratoři.

V oblasti spektrální analýzy byly nalezeny optimální podmínky tvorby iontových asociátů fentanylu, alfentanilu, remifentanilu a sufentanilu s vybranými azobarvivy a vypracován postup pro jejich extrakčně spektrofotometrické stanovení. V chromatografické oblasti lze s výhodou využít jednoduchých metod typu TLC a HPLC. Metody jsou využitelné pro rychlé a přesné stanovení daných opioidů.

**Klíčová slova:** *fentanyl, spektrometrie, chromatografie*

## Abstract

The article includes information about fentanyl, an anilidopiperidine type opioid substance and its derivatives, including information on the chemical and physical properties of these compounds, their use in clinical and military practice, and their determination by spectral and chromatographic methods in both stationary and field laboratory.

In the field of spectral analysis, optimal conditions were found for the formation of ion associates of fentanyl, alfentanil, ramifentanil and sufentanil with selected azo dyes. Furthermore, the procedure for their extraction spectrophotometric determination was elaborated. In the field of chromatography, simple methods such as the TLC or HPLC method can be employed. The methods can be used for swift and accurate determination of the aforementioned opioids..

**Key words:** *fentanyl, spectrometry, chromatography*

## ÚVOD

Ke skupině látek s výrazným analgetickým efektem, běžně používaným v lékařství a známým i ve vojenské a policejní sféře, je již několik desetiletí řazen syntetický opioid fentanyl a některé jeho deriváty jako remifentanil, alfentanil, sufentanil a carfentanil. Analgetika anilidového typu

© National Institute for NBC Protection, Kamenná, Czech Republic

<http://hazmat-protect.sujchbo.cz>

ISBN 978-80-270-4852-6

obsahují ve funkci centrálního atomu namísto kvarterního uhlíku terciární dusík, začleněný do anilidové vazby. Bazická dusíkatá skupina je s nejbližšími částmi molekuly spojena spojovacím řetězcem o třech uhlících. Tato anilidová anodyna lze řadit mezi nejúčinnější analgetika několikrát silnějšího účinku než morfin, na základě jehož struktury byla syntetizována [1].

## 1. Fentanyl a jeho využití

Narkotická analgetika morfinového typu, ovlivňující centrální nervovou soustavu, jsou pro svou vysokou aktivitu, rychlý nástup účinku, klinicky výhodnou dobu trvání účinku a možnosti aplikací intranasální (nosní spreje), perkutánní (náplasti Duragesic s různou dávkovací silou pro onkologicky nemocné), perorální (lízátka Artiq pro dětské pacienty), sublinguální, bukální (tablety Fentora) i intravenózní často využívána v medicínské oblasti před zahájením chirurgických zákroků, ke zmírnění pooperačních bolestí a léčbě průlomové bolesti. Fentanylové deriváty jsou využívány rovněž ve veterinární praxi ke znehybnění zvířat, konkrétně sufentanil a vysoce účinný carfentanil [2, 3].

Do širšího povědomí laické veřejnosti se tento typ opiátů dostal především po incidentu v Moskvě roku 2002, kdy armáda Ruské federace použila v rámci protiteroristické akce směs derivátů fentanylu ve formě aerodisperze k záchraně rukojmích v divadle Dubrovka, obsazeném čečenskými separatisty. V r. 2012 byla pracovníky laboratoře v Porton Down publikována informace o složení použitého aerosolu v Moskvě po provedené analýze vzorků oděvu a moči osob nacházejících se v moskevském divadle; jednalo se o směs remifentanilu a dosud v humánní medicíně nelegálního, velmi potentního carfentanilu [4]. Jako potenciální chemická zneschopňující látka byl fentanyl zkoumán již v 70. letech minulého století sovětskou KGB pod názvem Kolokol-1 [5].

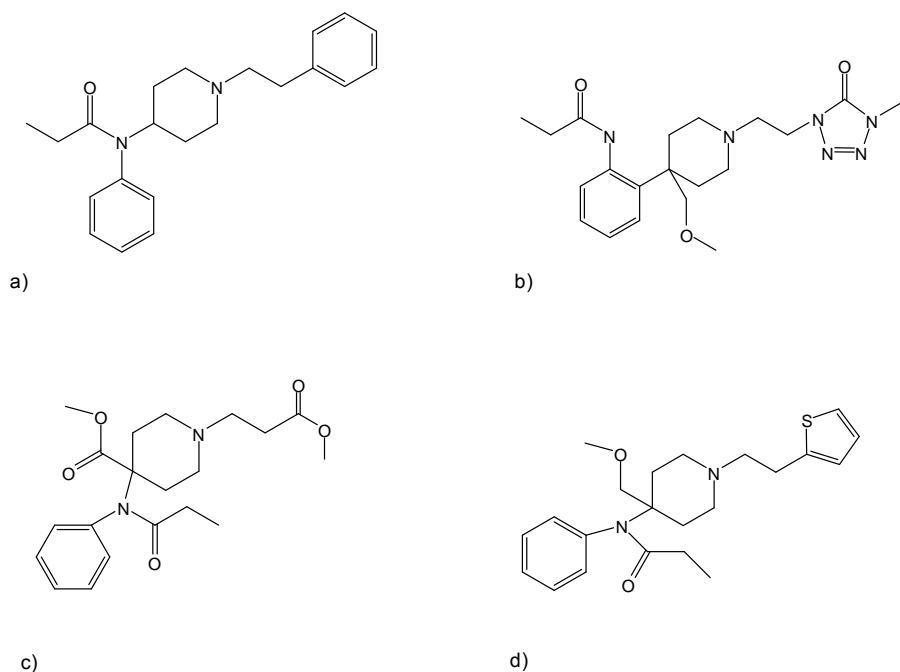
Fentanyl se jakožto relativně finančně dostupná psychoaktivní látka objevuje i na drogovém trhu. Podle zprávy Evropského drogového centra pro drogy a drogovou závislost způsobuje toto opioidní analgetikum a některá jeho analoga problém v oblasti veřejného zdraví a situace vyžaduje změnu strategie intervence ohledně možného předávkování a taktéž posouzení možností včasného zachytu a detekce těchto látek. Na nelegálních trzích je kromě heroinu běžný tramadol, metadon, buprenorfin a další opiáty [6]. Některé opioidy jsou drogově závislími jedinci získávány z legálních léčiv, jako např. fentanyl z náplastí Durogesic. Fentanyl a 3-methylfentanyl jsou často prodávány ve směsi s heroinem, případně jako jeho náhrada v zemích s nedostatkem heroinu, např. v Bulharsku a na Slovensku [7]. Ačkoliv je na trhu s drogami zřejmě nejběžnějším opiátem stále heroin, množství zachyceného fentanylu na evropském drogovém trhu zdaleka není zanedbatelné. Především proto, že se jedná o vysoce potentní látku představující vážné ohrožení zdraví a života drogově závislých jednotlivců.

### 1.1 Vlastnosti fentanylu a vybraných derivátů

Fentanyl, *N*-[1-(2-fenylethyl)-4-piperidinyl]-*N*-fenyl-propanamid se sumárním vzorcem  $C_{22}H_{28}N_2O$  je bílý prášek o molární hmotnosti 336,47 g/mol, rozpustnosti ve vodě 200 mg/l při 25 °C, bodem tání 87,5 °C a hodnotou pKa 8,4. Tento agonista  $\mu$ -opioidních receptorů se vyznačuje vysokou lipofilitou v organismu. Jeho základním terapeutickým účinkem je především

sedace a snížená vnímavost bolesti. Minimální účinná analgetická koncentrace fentanylu v séru je uváděna v rozmezí 0,3 – 1,5 ng/ml u pacientů dříve neléčených opiáty. Nežádoucí reakce jsou pozorovány při překročení hladiny 2 ng/ml. U některých pacientů dochází ke změnám nálad, euforii nebo stavům úzkosti, ospalosti. K nežádoucím účinkům patří výrazný pokles krevního tlaku, nauzea, mióza a reflexy spojené s kašláním. Za nejzávažnější projev předávkování tímto opiátem lze považovat oslabení dechového centra, které může vést až k rigiditě svalstva hrudníku, proto je nutná stálá kontrola dechu a řízená ventilace. Užívání mnohdy doprovází i zácpa, sucho v ústech, pocity svědění, halucinace, bolest hlavy, zpomalení nebo zástava dechu, nechutenství, pocit svědění, špatné trávení a celková slabost [8, 9].

Obrázek 1: Struktura a) fentanylu, b) alfentanilu, c) remifentanilu, d) sufentanilu



Alfentanil, ( $C_{21}H_{32}N_6O_3$ ). Látka s chemickým názvem *N*-{1-[2-(4-ethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1*H*-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)ethyl]-4-(methoxymethyl)piperidin-4-yl]-*N*-fenzylpropanamid je derivátem fentanylu s cca 10x nižší účinností. Vykazuje až 4x rychlejší nástup (asi do 60 vteřin) v porovnání s fentanylem a také rychlejší odeznění účinku, proto je používán jako anestetikum převážně při ambulantních výkonech [10, 11].

Remifentanil, methyl-1-(3-methoxy-3-oxopropyl)-4-*N*-(fenzylpropanamido)piperidin-4-karboxylát, látka sumárního vzorce  $C_{20}H_{28}N_2O_5$  je bílý, ve vodě rozpustný prášek. V lékové formě je indikován jako analgetikum, jehož působení v organismu je označováno jako ultrakrátké. Ve své molekule obsahuje esterovou vazbu a na jeho štěpení se podílejí nespecifické esterázy v plazmě a tkáních [10, 12].

Sufentanil, *N*-[4-(methoxymethyl)-1-(2-thiofuran-2-ylethyl)-4-piperidyl]-*N*-fenzylpropanamid, sumární vzorec  $C_{22}H_{30}N_2O_2S$ . Je používán převážně k epidurální a kombinované celkové anestezii. Vykazuje až 10x větší analgetický účinek než fentanyl. Tento bílý prášek, téměř nerozpustný ve vodě, je naopak mimořádně dobře rozpustný v tucích, čímž je umožněna rychlá penetrace do centrální nervové soustavy. Jeho účinek trvá přibližně 10 - 25 minut. Je poměrně často aplikován ve veterinární praxi [13, 14].

Carfentanil, látka se sumárním vzorcem  $C_{24}H_{30}N_2O_3$ , chemickým názvem methyl-1-(2-fenylethyl)-4-[fenzyl(propanoyl)amino]piperidin-4-karboxylát, je derivátem fentanylu s analgetickou účinností až 10 000x vyšší v porovnání s morfinem. Pod obchodním názvem Wildnil je preferován k imobilizaci velkých zvířat, v humánní medicíně není používán. Jako droga byl ve formě prášku bílé až světle žluté barvy nalezen v USA již v r. 1979. Účinky pouhé desetiny gramu carfentanilu je možné srovnat se 750 g extáze. [15, 16, 17].

Podobně silné účinky vykazuje lofentanyl, methyl{(3*S*,4*R*)-3-methyl-1-(2-fenylethyl)-4-[*N*-fenzylpropanamido]piperidin-4-karboxylát}, látka sumárního vzorce  $C_{25}H_{32}N_2O_3$ , u něhož je uváděna potence asi 6 000x vyšší než u morfinu a mimořádně dlouhá doba trvání účinku, a to více než 24 h. Za pozornost stojí též derivát furanylfentanyl, *N*-fenzyl-*N*-[1-(2-fenylethyl)piperidin-4-yl]furan-3-karboxamid, který byl forenzní analýzou prokázán při úmrtí několika desítek osob. Testy provedenými na zvířatech byl prokázán analgetický účinek srovnatelný s fentanylem [18, 19, 20].

Tabulka 1: Porovnání potence jednotlivých analogů fentanylu k morfinu [21]

Sloučenina	Analgetický účinek v poměru k morfinu
morfin	1
fentanyl	224
$\alpha$ -methylfentanyl	56,9
$\alpha$ -methylacetylfentanyl	3,1
<i>p</i> -fluorofentanyl	15,7
<i>p</i> -fluoroacetylfentanyl	7,3
butyrylfentanyl	7
acrylfentanyl	170
remifentanil	220
sufentanil	4 520
(+) <i>cis</i> -3-methylfentanyl	5 530
carfentanil	10 030

## 2. INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZA FENTANYLU, JEHO DERIVÁTŮ A METABOLITŮ V PRAXI

Ke kvalitativnímu i kvantitativnímu stanovení těchto psychofarmak je v současné době k dispozici široká nabídka instrumentace jak v oblasti spektrální analýzy, tak v oblasti chromatografické. K určování látek dusíkatého charakteru je často používána vysokoúčinná kapalinová a kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií, např. MALDI-TOF MS [22]. Při detekci fentanylu a sufentanilu, resp. jejich metabolitů v lidském séru našla uplatnění technika HPLC s následným využitím tandemové hmotnostní spektrometrie, přičemž meze detekce a stanovení byly autory prezentovány hodnotami 3 a 10 pg/ml. Analýza byla provedena na přístroji Agilent 1100 system - Waldbronn, Německo s použitím iontové pasti ThermoFinnigan LCQ, USA [23]. Stejně metody bylo rovněž využito v případě testu směsi remifentanilu a propofolu, kdy bylo dosaženo limitu detekce v řádech ng/ml. [24]. Metodou LC/MS-MS (API 3200) s trojitým kvadrupólovým analyzátořem, za použití osvědčené kolony C18, byla provedena kvantifikace koncentrace alfentanilu a midazolamu v lidské plazmě. Metoda je autory hodnocena jako citlivá, přesná, reprodukovatelná [25]. Metodou HPLC spojenou s výstupem v ultrafialové oblasti byly s uspokojivými výsledky analyzovány rovněž vzorky fentanylu a alfentanilu v lidské a křepí plazmě [26]. Při detekci fentanylu, alfentanilu, remifentanilu a sufentanilu a jejich hlavních metabolitů v lidské moči při antidopingové kontrole lze použít LC-electro-spray-MS/MS analýzu, a to s nízkým detekčním limitem až 0,5 ng/ml [27]. Některé laboratoře uplatňují separační instrumentace současně s plamenově ionizačním detektorem s alkalickým kovem (GC-AFID). Iontová chromatografie využívá u látek iontové povahy tvorby iontových asociátů v reakci s opačně nabitými ionty. Podmínkou reakce je relativně velký nepolární podíl v jejich molekule, určitá koncentrace protiontů a pH prostředí [28].

Vysoce citlivou metodou plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC-MS) byl proveden screening osob exponovaných látkami fentanyl, sufentanil a alfentanil. Při stanovení obsahu fentanylu v plazmě se citlivost této metody pohybovala v rozmezí od 500 pg/ml do 100 ng/ml. Za použití stejné přístrojové techniky bylo analyzováno 13 vzorků fentanylu a jeho derivátů v moči. Výsledky jsou uváděny v pikogramech na mililitr vzorku [29] a rovněž byla u osob, které zemřely následkem předávkování drogou, provedena studie stanovení fentanylu (jeho metabolitu norfentanylu), alfentanilu, sufentanilu s výslednými detekčními limity cca 0,04 ng/ml pro alfentanil a 0,08 ng/ml pro ostatní zkoumané substance [30]. Možnost spolehlivé identifikace stopových hodnot souboru několika narkotik včetně fentanylu a některých jeho metabolitů poskytuje iontová hmotnostně-spektrální analýza IMS ve spojení s FT-IR a GC-FTIR [31]. Vídeňské mezinárodní centrum UNODC vydalo r. 2017 doporučené návrhy metod pro analýzu fentanylu a příbuzných látek v biologických materiálech, kde je konkrétně uveden popis přípravy vzorků a jednotlivé metody jako např. právě GC/MS, LC/HRMC (Liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry screening) a další [32].

### 2.1 Analýza vybraných opiátů v armádních laboratořích

Současná doba klade vysoké nároky na preciznost a citlivost prováděných analýz. Laboratoře jsou vybavovány moderními výkonnými přístroji a na mnoha pracovištích je k dosažení

kvalitních analytických nebo semipreparativních výsledků preferováno spojení několika instrumentálních technik. Rovněž laboratoře Armády ČR prošly v posledních letech inovačním programem. Přesto existují situace, kdy lze (nebo je nutno) s výhodou využít jednodušších metod k orientačnímu, avšak spolehlivému stanovení zájmových látek, obzvláště mimo stacionární laboratoře.

V laboratoři Ústavu OPZHN byly provedeny experimentální práce s využitím UV/VIS spektrometru, kdy byly zjišťovány optimální podmínky pro použití azobarviv vhodných ke stanovení fentanylu a jeho tří derivátů – alfentanilu, remifentanilu a sufentanilu.

Z dosavadních prozkoumaných činidel bylo pro stanovení daných analytů možné jednoznačně preferovat azosloučeninu Acid Red 88 (CAS 1658-56-6), především z důvodu dosažené citlivosti metody, výraznému vizuálnímu zabarvení vznikajícího iontového asociátu, nezanedbatelné jednoduchosti metody a nárokům na obsluhu i nízkým finančním nákladům.

K identifikaci těchto analytů byla použita rovněž metoda tenkovrstvé chromatografie, přičemž byly analyzovány nejvhodnější kombinace mobilní a stacionární fáze, zajišťující adekvátní rozdělení analytů. Byl zjišťován vliv parametrů na hodnoty retenčních faktorů.

V experimentu byly použity dvousložkové mobilní fáze s ohledem na snadnost provedení práce v polních převozních analytických prostředcích.

Vzhledem k vybavení laboratoří novými přístroji lze v nejbližší době provádět analýzy této zájmové skupiny látek i s využitím HPLC systému a plynové chromatografie přístrojem Griffin s hmotnostním detektorem.

Tabulka 2: Výsledky spektrofotometrického stanovení analytů s činidlem Acid Red 88 [33].

Parametr	Fentanyl	Alfentanil	Remifentanil	Sufentanil
$\lambda_{\max}$ [nm]	518	518	518	518
pH <sub>opt</sub>	2,5	2	2	2
X/L	1	1	1	1
R <sup>2</sup>	0,9992	0,9981	0,9993	0,9969
s <sub>q</sub>	0,0052	0,0073	0,0044	0,0097
q	0,0049	-0,0094	0,0029	0,0048
LOD [mol/l]	1,09.10 <sup>-5</sup>	1,17.10 <sup>-5</sup>	1,19.10 <sup>-5</sup>	1,13.10 <sup>-5</sup>
LOQ [mol/l]	3,64.10 <sup>-5</sup>	3,92.10 <sup>-5</sup>	3,96.10 <sup>-5</sup>	3,78.10 <sup>-5</sup>

$\lambda$  – maximální absorbance, X/L – poměr činidla a analytu, R<sup>2</sup> – hodnota spolehlivosti, q - koeficient posunutí počátečního bodu na ose y, S<sub>q</sub> - směrodatná odchylka koeficientu q, LOD – limit detekce, LOQ - limit stanovitelnosti

Tabulka 3: Hodnoty R<sub>f</sub> analytů při 20 minutovém kondicionování desky – metoda TLC [34].

Analyt	Mobilní fáze	R <sub>f</sub>		
		$\bar{x}$	$\pm s$	s <sub>r</sub> (%)
AlF	Ethylacetát – hexan (7 : 3)	0,39	0,0064	0,75
F	Ethylacetát – hexan (7 : 3)	0,70	0,0072	0,98
ReF	Ethylacetát – hexan (7 : 3)	0,51	0,0048	0,49
SuF	Ethylacetát – hexan (7 : 3)	0,77	0,004	0,63

AlF – alfentanil, F – fentanyl, ReF – remifentanil, SuF – sufentanil,  $\bar{x}$  - aritmetický průměr, s – směrodatná odchylka, s<sub>r</sub> – relativní směrodatná odchylka.

## ZÁVĚR

Provedené experimentální práce, zaměřené na stanovení vybrané skupiny opiátů, dokazují možnost rychlé a přesné analýzy poměrně jednoduchou metodou iontově párové extrakční spektrometrie, již lze spolu s metodou TLC považovat za příspěvek ke zkvalitnění provádění orientační chemické kontroly zejména v rámci činnosti chemického vojska Armády České republiky v oblasti separace a analýzy zájmových látek. I přes současný rozvoj moderní instrumentace lze tradiční uplatnění UV/VIS spektrometru a tenkovrstvé kapalinové chromatografie implementovat do standardních pracovních postupů mobilních laboratoří.

## Poděkování

Výzkum byl podpořen z projektu Výzkum nových metod a technologií radiační a chemické ochrany a způsobů jejich realizace DZRO ÚOPZHN, UO Brno.

## Použitá literatura

- [1] DOLEŽAL, Martin a kol. *Farmaceutická chemie léčiv působících na centrální nervový systém*. Praha: Karolinum Press, 2013. 190 s. ISBN 9788024623825.
- [2] FRICOVÁ, J. a J. SLÍVA. Sublinguální fentanyl – nová forma opioidu pro léčbu průlomové bolesti. *Farmakoterapie*. 2011, **7**(1), 19-23.
- [3] DEJMEK, L. Extrémně účinná narkotická analgetika – nový typ „imobilizačních“ BChL? *Vojenské zdravotnické listy*. 2004, **73**(1), 27-36. ISSN 0372-7025.
- [4] RICHES R. J. et. al. Analysis of Clothing and Urine from Moscow Theatre Siege Casualties Reveals Carfentanil and Remifentanil Use. *Journal of Analytical Toxicology*. 2012, **36**(9), pp. 647-656.

- [5] HALÁMEK, Emil a Zbyněk KOBLIHA. Potenciální bojové chemické látky. *Chemické listy*. 2011, **105**(5), 323-333.
- [6] Fentanyl in Europe. EMCDDA Trendspotter Study. [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: <http://www.emcdda.europa.eu/www/advancedsearch.cfm>.
- [7] KUDLÁČKOVÁ, B. Výroční zpráva NPC za rok 2014. *Bulletin Národní protidrogové centrály*. Praha: PČR, 2015. ISSN 1211 – 8834.
- [8] LÜLLMANN, H., K. MOHR and M. WELHING. *Farmakologie a toxikologie*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. ISBN 80-247-0836-1.
- [9] STANLEY, H. T., D. T. EGAN, and H. VAN AKEN. A tribute to dr. Paul A. Janssen: Entrepreneur extraordinaire, innovative scientist, and significant contributor to anesthesiology. *Anesthetic Pharmacology*. 2008, **106**(2), 451-462.
- [10] MATHEW, J. et al. Methods for the synthesis of Alfentanil, Remifentanil and Sufentanil. United States Patent No: US 7,208,604 B2. 2007.
- [11] HESS, L. Nové deriváty fentanylu – carfentanil, lofentanil, sufentanil a alfentanil. *Remedia*. 1992, **2**(4-5), 263-264. ISSN 0862-8947.
- [12] EGAN, D., T: Remifentanil Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Clinical Pharmacokinetics*. 1995, **29**(2), 80-94.
- [13] SAVOIA, G., LORETO, M. and E. GRAVINO. Sufentanil: an overview of its use for acute pain management. *Minerva Anesthesiology*. 2001, **67**(9), 206-16.
- [14] Elliot S. Krames, Mouchir Harb. The Rational Use of Intrathecal Opioid Analgesics. *Neuromodulation*. 2009, pp. 441 – 455.
- [15] PITSCHMANN, Vladimír. Overall View of Chemical and Biochemical Weapons. *Toxins*. 2014, **6**, 1761-1784.
- [16] Evropa bojuje s novými drogami, urychlila proces jejich zákazu. *Zdravotnický deník*. Media Network s r.o. © 2018. [cit. 2018-07-19]. Dostupné z: <http://www.zdravotnickydenik.cz/2018/03/evropa-bojuje-novymi-drogami-urychlila-proces-zakazu/>
- [17] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Risk assessment report on a new psychoactive substance: Methyl 1-(2-phenylethyl)-4-[phenyl(propanoyl)amino]piperidine-4-carboxylate (carfentanil), 2017. [cit. 2018-05-10]. Dostupné z: [http://www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att\\_259560\\_EN\\_Carfentanil\\_RAR\\_with%20Annexes%20and%20cover.pdf](http://www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att_259560_EN_Carfentanil_RAR_with%20Annexes%20and%20cover.pdf)
- [18] P. BILSBACK, G. ROLLY and O. TAMPUBOLON. Efficacy of the extradural administration of lofentanil, buprenorphine od saline in the management of postoperative pain. *British Journal of Anaesthesiology*. 1985, **57**, pp. 943-948.
- [19] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Furanylfentanyl. Risk Assessment, 21. 2017. ISSN 1725-4493.



- [20] World Health Organization. Expert Committee on Drug Dependence. Geneva, 2017. [cit. 2018-04-23]. Dostupné z: <http://www.who.int/medicines/access/controlled-substances/Furanylfentanyl-PeerReview2.pdf>
- [21] HIGASHIKAWA, Yoshiyasu and Shinichi SUZUKI. Studies on 1-(2-phenethyl)-4-(N-propionylanilino)piperidine (fentanyl) and its related compounds. VI. Structure–analgesic activity relationship for fentanyl, methyl-substituted fentanyls and other analogues. *Forensic Toxicology*. 2008, 26, 1–5.
- [22] RITTGEN, Jan, PÜTZ, Michael and Ralf ZIMMERMANN. Identification of fentanyl derivatives at trace levels with nonaqueous capillary electrophoresis-electrospray-tandem mass spectrometry (MS(n), n = 2, 3): analytical method and forensic applications. *Electrophoresis*. 2012, 33(11), 1595-605.
- [23] MARTENS-LOBENHOFFER, Jens. Very sensitive and specific determination of sufentanil in human serum applying liquid chromatography-two stage mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 2002, 769:227-233 [cit. 2008-11-14]. Dostupné z: [http://www.med.uni-magdeburg.de/fme/institute/ikp/publikationen/auswahl2002/j\\_chromatogr\\_b227.pdf](http://www.med.uni-magdeburg.de/fme/institute/ikp/publikationen/auswahl2002/j_chromatogr_b227.pdf)
- [24] EL HAMD, Mohamed A. et al. HPLC Simultaneous determination of propofol and remifentanil in rat plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application to preclinical pharmacokinetic drug–drug interaction analysis. *Biochemical Chromatography*, 2014. [cit. 2018-05-27]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bmc.3281>
- [25] KIM, Thomas Kim, Amy LONDON and Evan D. KHARASCH. Simultaneous determination of alfentanil and midazolam in human plasma using liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011, 55(3), 487–493.
- [26] ALMOUSA, A. A. et al. HPLC-UV method development for fentanyl determination in rat plasma and its application to elucidate pharmacokinetic behavior after i.p. administration to rats. *Journal of Chromatography B*. 2011, 879, 2941-2944. [cit. 2013-02-21]. Dostupné z DOI: 10.1016/j.jchromb.2011.08.029 PII: S1570-0232(11)00555-1
- [27] THEVIS, M. et. al. Identification of fentanyl, alfentanil, sufentanil, remifentanil and their major metabolites in human urine by liquid chromatography/tandem mass spectrometry for doping control purposes. *European Journal of Mass Spectrometry*. 2005, vol. 11, pp. 419-427.
- [28] VAN ROY, H. H., N. P. E. VERMEULEN and J. G. BOVILL. The assay of fentanyl and its metabolites in plasma of patients using gas chromatography with alkali flame ionisation detection and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 1981, 223(1), 85-93. ISSN 0021-9673.
- [29] WANG, L. and T. J. BERNERT. Analysis of 13 Fentanils, Including Sufentanil and carfentanil, in Human Urine by Liquid Chromatography-Atmospheric-Pressure

- Ionization-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*. 2006, **30**(5), 335-341.
- [30] STRANO-ROSSI, S. Determination of Fentanyl, Metabolite and Analogs in Urine by GC/MS. *Journal of Applied Toxicology*. 2011, **31**(7), 649-54. DOI: 10.1002/jat.1613
- [31] VERKOUTEREN, R. J. and L. J. STAYMATES. Reliability of ion mobility spectrometry for qualitative analysis of complex multicomponent illicit drug samples. *Forensic Science International*. 2011, **206**(1), 190-196.
- [32] UNODC. Recommended Methods for the Identification and Analysis of Fentanyl and its Analogues in Biological Specimens. Vienna: United Nations, © 2017.
- [33] JELÍNKOVÁ, Romana. *Extrakční spektrofotometrie fentanylu a jeho derivátů*. Brno, 2014. Disertační práce. Univerzita obrany, Ústav OPZHN Vyškov.
- [34] MORAVCOVÁ, Ivana. *Tenkovrstvá chromatografie toxických vojensky významných sloučenin*. Brno, 2014. Disertační práce. Univerzita obrany, Ústav OPZHN Vyškov