Projektnummer/Project no
A403820

Kund/Customer
Försvarsdepartementet

FoT-område
Inget FoT-område

Handläggare/Our reference
Anders Östin

Datum/Date
2020-06-25

Memo nummer/Number
FOI Memo 7301

Profilering av fentanylplåster

Lina Mörén, Johanna Qvarnström och Anders Östin

Välj korrekt märkning enl. beslut

1 Inledning

Fentanyl är ett receptbelagt morfinliknande läkemedel som används vid behandling av kronisk smärta men som också används av missbrukare som ett alternativ till heroin eller morfin. I missbrukskretsar används både medicinsk fentanyl och illegalt producerade fentanylanaloger.

Medicinsk fentanyl administreras bland annat transdermalt via plåster och på svenska apotek finns idag 8 st olika plåstermärken tillgängliga [1]. Plåstren finns i doserna 12, 25, 50, 75 eller 100 µg/h. Vid behandling av smärta ska ett plåster bäras på huden i 72 timmar innan det byts ut till ett nytt. Dock har man sett att även efter 72 timmars användning kan ett plåster fortfarande innehålla en dödlig dos fentanyl [2] vilket gör att både nya och använda plåster är eftersökta av missbrukare. I en studie har man mätt den kvarvarande dosen fentanyl i plåster efter 72 timmar till mellan 28 och 84 % [3] vilket har medfört att missbrukare har tagit använda plåster från patienter på äldreboende och av avlidna personer [4]. Dryga 30 % av fentanylbeslagen i Sverige mellan 2006 och 2017 utgjordes av fentanylplåster enligt statistik från Nationellt Forensiskt Centrum (NFC).

Illegalt producerade fentanyl-analoger säljs via internet och man har sett att olika illegala laboratorier använder sig av olika syntesvägar vid produktionen [5]. Detta gör att man kan analysera beslagtagna fentanylanaloger med analytiska metoder med avseende på kemisk signatur där den kemiska signaturen kan sedan användas för att utreda vilken syntesväg som används vid tillverkning och/eller koppla samman olika beslag med varandra. Profilering med hjälp av kemisk signatur är en etablerad metod för att ta fram information om ursprung, tillverkningsmetod osv. för flertalet droger så som kokain [6] och heroin [7] och det finns ett fåtal publikationer där man har tittat på den kemiska signaturen från olika syntesvägar vid framställandet av fentanyl [8, 9]. Vi har tidigare analyserat olika fentanylanaloger syntetiserade med tre syntesmetoder och tagit fram en modell som klarar att prediktera syntesmetod för beslagtagna fentanylanaloger [10].

Eftersom en tredjedel av fentanylbeslagen i Sverige bestod av plåster ville vi med denna studie även undersöka om plåster från olika märken gav upphov till olika kemisk signatur som potentiellt skulle kunna användas för att koppla samman en beslagtagen plåsterbit eller extrakt från plåster till ett specifikt märke/tillverkare. Fyra olika extraktionslösningar baserat på metoder från missbrukarkretsar användes för att extrahera fentanylplåster från sex olika märken. Nya plåster, extrakt och extraherade plåster analyserades med GC-MS och UHPLC-HRMS för att undersöka om plåstren gav någon kemisk signatur, om extrakten kunde kopplas till ett specifikt märke, om extraktionslösningen påverkade den kemiska signaturen och om det fortfarande fanns någon information kvar i extraherade plåster.

.

2 Metod

I denna studie har 6 st av de tillgängliga fentanylplåstermärkena på svenska apotek analyseras (Tabell 1). Samtliga var depotplåster med en dos på 25 µg/h. Fokus har legat på fentanylplåster extraherade med lösningsmedel och extraktionsmetoderna har valts utifrån kända procedurer i missbrukarkretsar. Både extrakt och plåster har analyserats med avseende på kemisk signatur med två olika analysmetoder, GC-MS och UHPLC-HRMS.

Tabell 1. Fentanylplåster inkluderade i studien.

Tillverkare	Märke
Teva	Fentanyl Actavis
Bluefish Pharma	Fentanyl Lavipharm
Mylan	Fentanyl Mylan
Takeda Pharma	Matrifen
Orion Pharma	Fentanyl Orion
Janssen	Durogesic®

2.1 Direktanalys av plåster

Initialt extraherades plåstren direkt i diklormetan (DCM) för att undersöka om olika plåstermärken gav olika kemiska signaturer. Ett plåster från varje märke delads i två ungefär lika stora delar. Enda delen lades tillbaka i förpackningen medan den andra delen delades i ytterligare två ungefär lika stora delar och placerades i GC vialer. Plåsterdelarna vägdes upp innan extraktion med diklormetan (DCM) för att kunna justera mängden DCM baserat på viktskillnaden mellan plåsterdelarna från samma märke. Plåstren fick stå 3h innan de analyserades med GC-MS.

2.2 Analys av extrakt

Nästa steg var att ta reda på om extrakten från de olika plåstermärkena gav en unik kemisk signatur kopplad till ett specifikt märke. Då det verkar finnas flertalet olika metoder när det kommer till extraktionen av fentanylplåster bland missbrukarna undersöks även möjligheten att koppla samman märkena med varandra vid extraktion med olika extraktionslösningar. Ett plåster från varje märke delades i fyra lika stora delar med en skalpell och delarna placerades i fyra vialer. Till vial 1 tillsattes 10 ml kranvatten, till vial 2 tillsattes 10 ml 99 % etanol, till vial 3 tillsattes 10 ml etanol/vatten (40/60) och till vial 4 tillsattes en blandning av etanol 99 %, citronsyra (1/2 tsk) och socker (1/4 bit). Vial 3 och 4 fick stå i värmeblock på 60 °C i 2 timmar. Samtliga vialer fick sedan stå i rumstemperatur i en vecka innan en del av extraktet togs ut för analys. Extrakten analyserades sedan med GC-MS och UHPLC-HRMS. För analys med GC-MS torkades provet in innan det löstes upp i DCM och derivatiserades med BSTFA. Plåster som extraheras i 99 % etanol analyserades även direkt, utan upparbetning, med GC-MS. En blank med enbart extraktionslöning analyserades tillsammans med extrakten.

2.3 Direktanalys av extraherade plåster

I syfte att undersöka möjligheten att koppla en redan extraherad plåsterbit till ett specifikt märke togs plåsterbitarna som extraherats upp och placerades i nya vialer tillsammans med 1 ml DCM. Proverna analyserades sedan med GC-MS.

2.4 Dataanalys

GC-MS data processades via ett bibliotek bestående av alla toppar från alla prover. Toppar som även detekterades i extraktionslösningsblankarna exkluderades. Den resulterande datatabellen analyserades sedan med principalkomponent analys (PCA) och ortogonal projektion till latenta strukturer (OPLS). Data log-transformerades och UV-skalades innan analys.

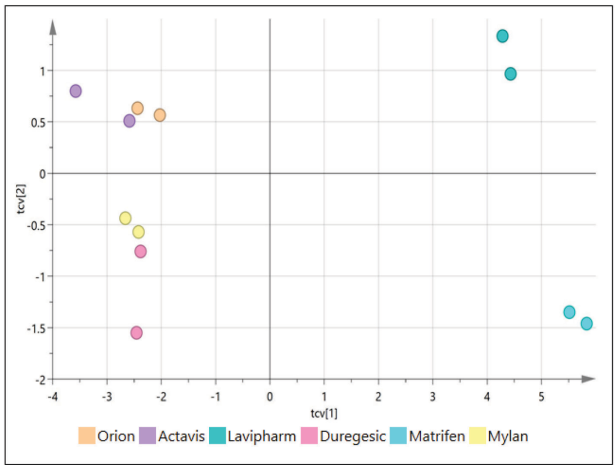
UHPLC-HRMS data processades via DataAnalysis 4.2 and ProfileAnalysis 2.1 (Bruker Daltonik GmbH). Toppar som enbart detekterades i ett prov exkluderades och variabelselektion baserat på w* > ($\overline{w*} \pm$ 2 SD) utfördes sedan för att reducera antalet toppar ytterligare.

3 Resultat och diskussion

Samtliga plåster hade en märkning där dosen stod utskriven som potentiellt skulle kunna användas för att koppla samman ett beslagtaget plåster med ett specifikt märke. Dock noterades i denna studie att märkningen försvann efter extraktion i etanol från vissa av plåstermärkena vilket gör att den kemiska signaturen från olika plåstermärken kan komma att vara användbar vid analys av en bit av ett plåster, ett redan extraherat plåster eller ett extrakt där själva plåsterbiten redan kasserats.

Direktanalys av plåster

I syfte att undersöka om det gick att extrahera modellerbar information från plåstren analyserades plåstren direkt i DCM. Figur 1 visar att det var möjligt att detektera skillnader mellan de olika märkena baserat på data från GC-MS vilket genererade hypotesen att även extrakten och extraherade plåster kunde innehålla systematisk information som kunde kopplas till plåstermärke.

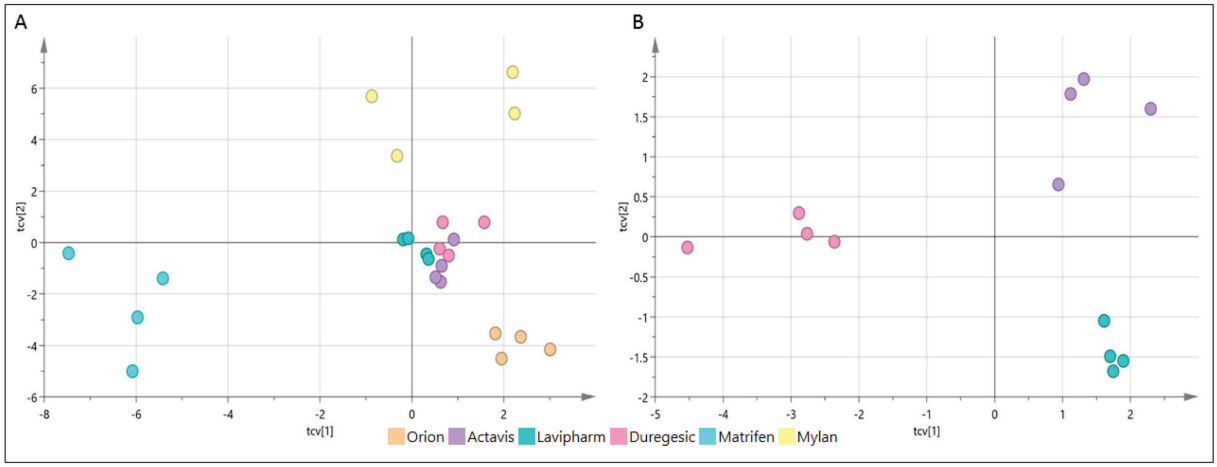


Figur 1. Korsvaliderad OPLS-DA score scatter plot över alla märken efter direktanalys i DCM.

Analys av extrakt

Extrakten från fentanylplåster analyserades för att undersöka möjligheten att hitta unika kemiska signaturer för att koppla ett plåsterextrakt till ett specifikt märke. Fyra extraktionslösningar användes även vid försöket för att undersöka om olika extraktionslösningar gav upphov till olika kemiska signaturer från plåster av samma märke.

Då tre av extraktionsmetoderna innehöll vatten evaporerades samtliga prover till torrhet, löstes upp i DCM och derivatiserades med BSFTA innan analys på GC-MS. Det genererade GC-MS data innehöll dock ingen modellerbar variation och ingen separation mellan plåstermärkena kunde urskiljas. Däremot kunde de olika märkena separeras med avseende på kemisk signatur efter analys med UHPLC-HRMS. Märkena Matrifen, Mylan och Orion skilde ut sig mest från de övriga (Figur 2A) och när övriga märken modellerades för sig kunde även tydliga skillnader mellan Lavipharm, Actavis och Durogesic utskiljas (Figur 2B). Extraktionslösningen påverkade den kemiska signaturen för vissa märken. Plåstermärket Mylan uppvisade störst skillnad i kemisk signatur beroende på vilken extraktionslöning som använts, dock var skillnaden mellan de olika märkena större än skillnaden mellan extraktionslösning vilket tyder på att man bör kunna använda modellen för extrakt med olika typer av lösningsmedel.

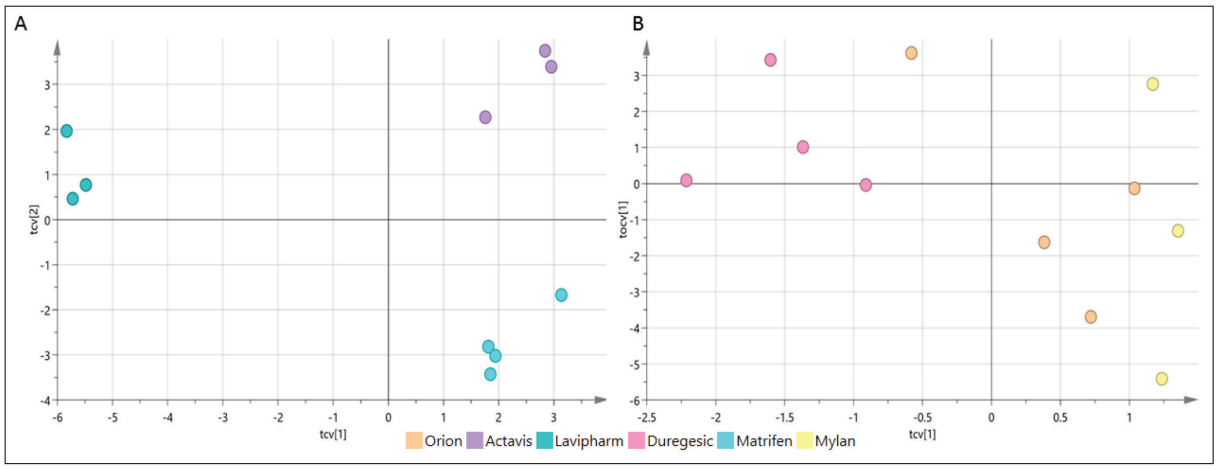


Figur 2. A) Korsvaliderad OPLS-DA score scatter plot över alla plåster analyserade med LC-MS. B) Korsvaliderad OPLS-DA score scatter plot över Durogesic, Actavis och Lavipharm.

Direktanalys av extraherade plåster

Extraherade plåsterbitar analyserades genom att plåsterbiten tog upp ur extraktionslösningen och placerades i en vial med DCM. Detta för att undersöka om det fortfarande var möjligt att koppla en plåsterbit till ett märke efter att det extraherats.

Det var mycket fentanyl kvar i plåstren även efter att de stått i extraktionslösningen i en vecka. Mest fentanyl fanns kvar i plåstren som extraherats med vatten, räknat på samtliga plåster så var det i medeltal 70 % mer fentanyl kvar i plåstren som extraherats med vatten än de som kokats i vatten/etanol. Mängden kvarvarande fentanyl skildes sig dock mellan de olika märken, för Matrifen var det 97 % mer fentanyl kvar i plåstret vid vattenextraktion än med vatten/etanol medan i Actavis skiljde det enbart med 38 %. Baserat på den kemiska signaturen från de extraherade plåstren i DCM var det möjligt att separera Lavipharm, Matrifen och Actavis (Figur 3A). Det gick även att separera Durogesic från Orion och Mylan (Figur 3B). Dock skilde sig inte den kemiska signaturen mellan Orion och Mylan tillräckligt för separation.



Figur 3. A) Korsvaliderad OPLS-DA modell över Lavipharm, Actavis och Matrifen. B) Korsvaliderad OPLS-DA modell över Mylan, Durogesic och Orion.

4 Slutsats

Samtliga plåstermärken i denna studie gav ifrån sig en unik kemisk signatur vid direktanalys av plåster i DCM. Studien visar även att vid analys av misstänkt plåsterextrakt bör främst UHPLC-HRMS användas då extrakten troligtvis innehåller en viss mängd vatten. Tre av märkena kunde man utan svårigheter utskilja efter UHPLC-HRMS. Matrifen, Mylan och Orion uppvisade en tydlig kemisk signatur skild från varandra. Modellerades de resterande märkena, Lavipharm, Durogesic och Actavis, separat kunde även en unik signatur från dessa urskiljas trots att den inte var lika påtaglig som för de första tre. Extrakten bör inte analyseras med GC-MS då indunstning följt av derivatisering resulterade i data som inte innehöll någon modellerbar variation. Vid analys av extraherade plåster i DCM var det möjligt att separera alla märken, bortsett från Mylan och Orion, baserat på den kemiska signaturen. Mylan och Orin uppvisade mycket lika kemiska signatur vilket gjorde att dessa två inte gick att skilja från varandra. Identiteten på de variabler som skiljer plåstermärkena åt har inte fastställts vid någon av analyserna då studien främst syftade till att undersöka möjligheten att detektera skillnader och klassificera plåstermärken snarare än att utreda exakt vilka ämnen som skiljer dem åt.

5 Referenser

1. FASS. 2018.
2. Tharp, A.M., R.E. Winecker, and D.C. Winston, Fatal intravenous fentanyl abuse - Four cases involving extraction of fentanyl from transdermal patches. American Journal of Forensic Medicine and Pathology, 2004. **25**(2): p. 178-181.
3. Marquardt, K.A., R.S. Tharratt, and N.A. Musallam, FENTANYL REMAINING IN A TRANSDERMAL SYSTEM FOLLOWING 3 DAYS OF CONTINUOUS USE. Annals of Pharmacotherapy, 1995. **29**(10): p. 969-971.
4. Flannagan, L.M., J.D. Butts, and W.H. Anderson, Fentanyl patches left on dead bodies - Potential source of drug for abusers. Journal of Forensic Sciences, 1996. **41**(2): p. 320-321.
5. Federal Register Volume 73, Issue 144 (July 25, 2008). 2008: p. 43355-43357.
6. Nielsen, L.S., P. Villesen, and C. Lindholst, Stability of cocaine impurity profiles during 12 months of storage. Forensic Science International, 2016. **264**: p. 56-62.
7. Dams, R., et al., Heroin impurity profiling: trends throughout a decade of experimenting. Forensic Science International, 2001. **123**(2-3): p. 81-88.
8. Lurie, I.S., et al., Profiling of illicit fentanyl using UHPLC-MS/MS. Forensic Science International, 2012. **220**(1-3): p. 191-196.
9. Mayer, B.P., et al., Chemical Attribution of Fentanyl Using Multivariate Statistical Analysis of Orthogonal Mass Spectral Data. Analytical Chemistry, 2016. **88**(8): p. 4303-4310.
10. Moren, L., et al., Attribution of fentanyl analogue synthesis routes by multivariate data analysis of orthogonal mass spectral data. Talanta, 2019. **203**: p. 122-130