Aplicação de UHPLC-MS/MS na Identificação e Quantificação de Nitazenos

Francisco Gomes[1], Laura Simões[1]

[1] Mestrado em Tecnologias Laboratoriais em Ciências Forenses, Instituto Universitário Egas Moniz, 2829-511 Caparica, Almada, Portugal
* Correspondência: 118188@alunos.egasmoniz.edu.pt

Introdução

Os nitazenos são opioides sintéticos derivados do benzimidazol que atuam nos recetores opioides μ. Alguns análogos apresentam elevada potência e têm sido identificados em casos de intoxicação fatal. Em toxicologia forense, as baixas concentrações em amostras biológicas e a existência de isómeros que partilham transições em espectrometria de massa em tandem dificultam a sua análise. A cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC) permite separar esses isómeros antes da deteção por MS/MS, favorecendo a sua identificação e quantificação.

Objetivo

Esta revisão narrativa procura compreender como a UHPLC-MS/MS permite identificar e quantificar nitazenos em sangue total, manchas de sangue seco e cabelo. Para isso, comparam-se a preparação da amostra, as colunas cromatográficas e os limites de quantificação reportados, com especial atenção ao papel da fase estacionária na separação de isómeros em toxicologia forense.

Metodologia



Resultados

Tabela 1. Comparação dos métodos de UHPLC-MS/MS para quantificar nitazenos em matrizes biológicas.

Estudo	Matriz	Preparação da amostra	Coluna	Painel	LOQ
Wachełko	Sangue total	Extração líquido–líquido	PFP e BEH C18[1]	26[2]	**0,01–0,05 ng/mL**
Pereira	Sangue total	Precipitação de proteínas	HSS T3 (C18)	2	**0,1 ng/mL**
Ververi	Sangue seco	Extração com sonicação	Kinetex C18	9	**1 ng/mL**
Gao	Cabelo	Extração com metanol	Kinetex Biphenyl	17	**5–20 pg/mg**

Discussão

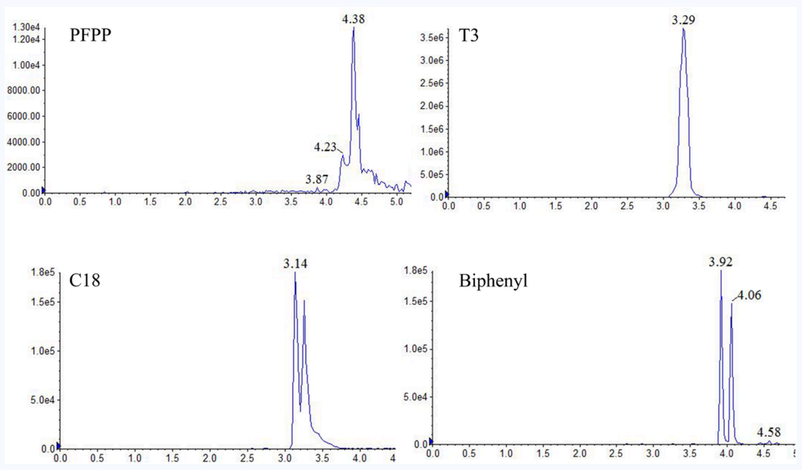

Figura 1. Isotonitazeno e protonitazeno em quatro colunas.

A Figura 1 mostra como a fase estacionária influencia a separação do isotonitazeno e do protonitazeno. Nas condições testadas por Gao et al., as colunas PFPP e T3 não resolveram o par de isómeros, a C18 permitiu uma separação parcial e a coluna de bifenilo atingiu separação de linha de base, com picos aos 3,92 e 4,06 min. Esta resolução é particularmente relevante quando os isómeros partilham transições em MS/MS, pois permite distingui-los pelo tempo de retenção. No método aplicado a cabelo, a coluna de bifenilo permitiu separar seis grupos de isómeros numa corrida de 6,5 min.

A escolha da coluna depende dos analitos a separar. Em sangue total, Wachełko et al. utilizaram uma coluna PFP para resolver três isómeros do butonitazeno e uma BEH C18 para os restantes analitos do painel. Os limites de quantificação apresentados na tabela devem ser interpretados tendo em conta a matriz, o painel e os critérios de validação de cada método. Em particular, os valores em cabelo (pg/mg) e em sangue (ng/mL) referem-se a bases de concentração diferentes.

Conclusão

Os estudos revistos demonstram a aplicabilidade da UHPLC-MS/MS à análise de nitazenos em sangue total, manchas de sangue seco e cabelo, com limites de quantificação inferiores a 1 ng/mL nos dois métodos em sangue total. A escolha da fase estacionária é determinante para distinguir isómeros que partilham transições em MS/MS, como demonstra a separação de linha de base do isotonitazeno e do protonitazeno numa coluna de bifenilo. Em toxicologia forense, a escolha do método deve considerar a matriz e os analitos a quantificar, bem como os pares de isómeros que é necessário distinguir.

Bibliografia