

· 综 述 ·

芬太尼及其衍生物的代谢转化研究进展

李泽华¹, 王凯^{1,2}, 徐斌¹, 庄笑梅¹, 赵瑾³, 郭磊¹, 谢剑炜¹

(军事科学院军事医学研究院 1. 毒物药物研究所, 3. 科研保障中心, 北京 100850;

2. 联勤保障部队三亚康复疗养中心, 海南 三亚 572000)

摘要: 芬太尼及其衍生物是 μ 阿片受体的强效激动剂, 药用芬太尼在临床上多被用于镇痛及麻醉。其镇痛的不良反应之一为欣快感, 导致包括药用芬太尼在内的芬太尼类衍生物在国际上部分地区的滥用问题, 致死案例逐年攀升。为逃避法规监管, 新型芬太尼类衍生物层出不穷, 对公众健康、社会安全造成了严重威胁。全面认识掌握芬太尼类衍生物的代谢转化规律特征, 对实现其暴露中毒后的精准溯源具有重要意义。本文对芬太尼类衍生物的代谢研究模型、代谢途径及产物特征进行简要综述, 包括芬太尼类衍生物在细胞色素 P450 酶的作用下发生多种官能团化反应(I 相代谢), 以 *N*-脱烷基化和羟基化代谢途径为主; 还可发生甲基化、葡萄糖醛酸化和硫酸化等结合反应(II 相代谢), 生成相应的结合产物; 骨架上的设计型修饰对代谢物谱改变明显。提出单一代谢产物不能准确追溯至原型, 尚需对于不同芬太尼衍生物类型关注不同代谢产物; 芬太尼类的代谢产物是良好的候选暴露生物标志物, 亟需开展全面时-量-效关系研究以准确确定暴露及效应生物标记物谱。本综述旨在为临床诊治、法医鉴定及政府管控方面所涉及到的芬太尼类衍生物的代谢转化、筛查溯源等研究提供支持。

关键词: 芬太尼类衍生物; 代谢; 物质滥用检测; 生物标志物

中图分类号: R971 文献标志码: A 文章编号: 1000-3002-(2021)03-0223-12

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2021.03.009

1960年, 比利时科学家保罗·杨森(Paul Janseen)以 *N*-苄基-4-哌啶酮为起始原料首次全合成了芬太尼, 一类全新结构的强效阿片受体激动剂从此产生。芬太尼选择性作用于 μ 阿片受体, 镇痛效果为吗啡的 50 ~ 100 倍, 且起效较快, 被用作麻醉性镇痛药, 用于全身和局部的麻醉以及持续性中重度慢性疼痛的治疗。之后陆续合成了系列芬太尼类衍生物, 按用途可大致分为药用和非药用芬太尼类衍生物两大类。

药用芬太尼类衍生物共 5 种, 包括已注册用于人体的芬太尼、瑞芬太尼、舒芬太尼、阿芬太尼和用于大型动物的卡芬太尼。镇痛活性按半数有效剂量(ED_{50} , $mg \cdot kg^{-1}$)排序为瑞芬太尼(0.0044) \approx 芬太尼(0.0041) < 舒芬太尼(0.00071) < 卡芬太尼(0.00041^[1])。瑞芬太尼在麻醉中被广泛用作诱导剂和维持剂, 在重症监护室用于术后疼痛管理和镇

痛。卡芬太尼镇痛作用已达吗啡的 10000 倍。通常认为, 芬太尼类衍生物结构上哌啶环的扩张或收缩均会显著降低其镇痛活性^[2], 哌啶环上特定取代基的顺反构型亦会对镇痛活性造成影响。

芬太尼类衍生物可激动 μ 阿片受体, 在镇痛同时让人产生轻松愉悦的感觉, 相比海洛因等毒品作用时间短、成瘾性弱、原料易得、价格低廉, 因此贩毒人员将非法“设计”合成的芬太尼类衍生物掺杂在海洛因或可卡因等毒品中谋取更多利润^[3]。但是芬太尼类衍生物致死剂量较低, 摄入极少量即可对人体造成伤害乃至危及生命, 如 20 μg 卡芬太尼即可致使一名成年人死亡。20 世纪 80 年代出现了 3-甲基芬太尼、 α -甲基芬太尼、 β -羟基芬太尼等滥用的报道, 但仅为个例。2010 年后, 新型芬太尼类衍生物在美国、欧洲等滥用现象愈演愈烈。2017 年, 美国芬太尼类衍生物滥用致 2.9 万人死亡, 超越海洛因成为过量致死案例最多的非法药物, 美国于当年即宣布进入公共卫生“紧急状态”, 并成立了对抗阿片药物危机的“总统委员会”。

不法分子为逃避法律监管不断合成新型芬太尼类衍生物(又称设计型芬太尼 designer fentanyl),

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1602600)

作者简介: 李泽华, 博士研究生, 主要从事毒物药物分析研究, E-mail: cpulzh96@163.com

通讯作者: 赵瑾, E-mail: zhjs1975@163.com; 郭磊, E-mail:

芬太尼同系物 fentals) , 目前已有 1400 余种非药用芬太尼类衍生物被报道。2018 年 2 月, 美国缉毒局将不受《联邦列管物质法案》管制的所有芬太尼类衍生物列入表 1, 开始进行整类管控。在我国, 从 2013 年版的《麻醉药品和精神药品目录》到 2018 年版的《非药用类麻醉药品和精神药品管制品种增补目录》, 已将 25 种芬太尼类衍生物及 2 种前体在内的 170 种新精神活性物质列入管控范围。鉴于愈演愈烈的美国阿片危机及其滥用趋势, 2019 年 5 月 1 日起, 我国将芬太尼类物质全部列入《非药用类麻醉药品和精神药品管制品种增补目录》, 进行整类列管。2020 年 3 月, 联合国麻醉药品委员会第 63 届会议决定在《麻醉品单一公约》附表一中增加巴豆酰芬太尼和戊酰芬太尼, 并于 2020 年 5 月 7 日生效。

芬太尼类衍生物效价高、致死剂量低, 在体内广泛代谢, 仅有极少量原型通过尿液排出, 体外检测需要极高灵敏度。Shanks 等^[4]在 262 名死亡者血液样本中鉴定出卡芬太尼, 血液浓度范围为 10.2 ~ 2000 ng·L⁻¹, 平均浓度 193 ng·L⁻¹, 因此建议任何用于检测人类全血样本中卡芬太尼的分析方法都应足够灵敏, 最好使用 10 ~ 50 ng·L⁻¹ 的定量下限。但并未在任何尿液样本中检测到卡芬太尼原型。

在分析急性中毒病例或死亡病例的生物样本时, 代谢产物对于确认此类化合物的摄取至关重要。临床及法医分析中的检测鉴定更需广泛涵盖芬太尼类衍生物的代谢产物, 从而延长在生物学基质(血液、尿液、毛发、唾液和组织等)中的检测窗口, 提高筛查检测效率。与此同时, 新型芬太尼衍生物层出不穷、代谢广泛、主要代谢物相同或相似, 为临床、法医及监管的相关检测鉴定工作提出了严峻挑战。

因此, 迫切需要全面了解芬太尼类衍生物的代谢途径和代谢产物的结构特点, 以期达到合理推测新型芬太尼衍生物代谢转化规律, 以及针对不同时期、不同类型生物学样品进行准确筛查鉴定的目的。本文针对已报道的芬太尼类衍生物的代谢行为, 从代谢模型、代谢途径和代谢产物特征等方面进行总结评述。

1 芬太尼类衍生物概述

芬太尼类衍生物是一类 4-苯胺哌啶衍生物, 典型的芬太尼类结构均含 4 个可修饰单元, 分别为 *N*-烷基部分(R_1)、哌啶环(R_2)、酰胺基团(R_3)和苯胺基团(R_4)。新型芬太尼类衍生物多集中于其 R_3 、 R_4 部分的结构改造。中毒样本检测是临床毒理学中

一个重要问题, 但对于新型芬太尼类衍生物的代谢研究仍然明显不足。表 1 列出目前已报道涉及代谢产物研究的药用和非药用芬太尼类衍生物种类及结构修饰情况, 需要说明的是, 仅占已报道的 1400 余种芬太尼类衍生物的约 1/50。芬太尼类衍生物均在体内代谢生成多种 I 相和 II 相代谢产物, 除瑞芬太尼外, 主要在细胞色素 P450 酶(cytochrome P450, CYP450)的作用下代谢, 代谢酶表型为 CYP3A4, 2D6, 2C19 和 3A5 等^[5]。

公认的代谢产物之一为无活性的哌啶环 N 原子脱烷基化代谢产物, 通常以“诺”冠于产物名称词首, 如诺芬太尼和诺卡芬太尼等, 简称“诺-代谢物(nor-metabolite)”^[6]。目前在分析生物样本中的代谢产物时, 一般考虑将诺芬太尼作为首要定性定量指标。但由于芬太尼类衍生物具有很强的结构相似性, 某些情况下, 它们可具有相同的代谢产物, 如芬太尼和 α -甲基芬太尼均代谢产生诺芬太尼; 卡芬太尼和瑞芬太尼均代谢产生诺卡芬太尼^[7]; 阿芬太尼和舒芬太尼均代谢产生诺阿芬太尼等。因此, 不能仅通过对单一诺-代谢物的检测鉴定来确定某一种芬太尼。

2 体内外代谢体系

新型芬太尼类衍生物的毒物代谢特征包括毒物代谢物谱、代谢分布及动力学等, 对于中毒诊断救治非常重要。目前常使用大鼠、小鼠、家兔和比格犬作为模型动物进行毒物代谢研究, 体外模型主要用于评估与人体内 I 相和 II 相代谢的相关性。常用的体外代谢模型包括人肝微粒体(human liver microsomes, HLM)、人肝 S9、人原代肝细胞(human primary hepatocytes, h-PRM-HEP)和人肝细胞系 HepaRG、诱导人干细胞源性肝细胞(human iPS cell-derived hepatocytes, h-iPS-HEP)和人源化小鼠肝细胞(hepatocytes isolated from a liver-humanized mouse, PXB)等。HLM 虽通常适用于预测各种 I 相代谢物, 但其代谢产物丰度并不一定能反映体内真实情况。另外亦有小肠微粒体代谢芬太尼的报道。人滥用中毒病例可提供部分代谢转化信息, 但需详细梳理健康状况、合用药物及肝和胃肠道的代谢酶基因多态性所带来的影响。表 2 总结了目前已报道的芬太尼类衍生物的体内外代谢体系情况^[6, 8-25]。结合体内外代谢体系, 如人肝细胞系及中毒病例全面获得代谢物谱, 是一种较为科学合理的方式。

表 1 芬太尼类衍生物的结构

芬太尼类衍生物	R ₁ (<i>N</i> -烷基, 蓝色)	R ₂ (哌啶环, 绿色)	R ₃ (酰胺, 橙色)	R ₄ (苯胺, 红色)
芬太尼	苯乙基	哌啶	丙酰基	苯基
瑞芬太尼	乙基羧酸甲酯	哌啶环+4-甲氧羰基	丙酰基	丙酸甲酯
舒芬太尼	乙基噻吩	哌啶环+4-甲氧甲基	丙酰基	苯基
阿芬太尼	1',4'-二乙基-1',4'-二氢-5'-氧-四唑	哌啶环+4-甲氧甲基	丙酰基	苯基
卡芬太尼	苯乙基	哌啶环+4-羧酸甲酯	丙酰基	苯基
α-芬太尼	苯丙基	哌啶	丙酰基	苯基
α-甲基芬太尼	苯乙基+α-甲基	哌啶	丙酰基	苯基
3-甲基芬太尼	苯乙基	哌啶环+3-甲基	丙酰基	苯基
乙酰芬太尼	苯乙基	哌啶	乙酰基	苯基
丁酰芬太尼	苯乙基	哌啶	丁酰基	苯基
丙烯酰芬太尼	苯乙基	哌啶	丙烯酰基	苯基
甲氧乙酰芬太尼	苯乙基	哌啶	甲氧乙酰基	苯基
2,2,3,3-四甲基环丙基芬太尼	苯乙基	哌啶	2,2,3,3-四甲基环丙基	苯基
环丙基芬太尼	苯乙基	哌啶	环丙基	苯基
环丁基芬太尼	苯乙基	哌啶	环丁基	苯基
环戊基芬太尼	苯乙基	哌啶	环戊基	苯基
环己基芬太尼	苯乙基	哌啶	环己基	苯基
呋喃芬太尼	苯乙基	哌啶	呋喃基	苯基
四氢呋喃芬太尼	苯乙基	哌啶	四氢呋喃基	苯基
邻/间/对氟芬太尼	苯乙基	哌啶	丙酰基	氟代苯基
异芬太尼	苄基	哌啶环+3-甲基	丙酰基	苯基
奥芬太尼	苯乙基	哌啶	甲氧乙酰基	氟代苯基
4-氟-异丁基芬太尼	苯乙基	哌啶	异丁酰基	氟代苯基

3 代谢途径及代谢产物特征

芬太尼类衍生物摄入人体后,主要通过 CYP 酶进行代谢转化。主要的 CYP 亚型为 CYP3A4 和 CYP2D6,代谢途径为 *N*-脱烷基化、羟基化。其他 I 相代谢途径还包括,通过酰胺水解生成去酰胺基代谢产物、*N*原子氧化生成 *N*-氧化物以及 R₃酰胺末端烷基氧化生成羧酸产物等。个别芬太尼类衍生物还可在其特异取代基处发生酯基的水解反应、甲氧基的 *O*-脱甲基化、呋喃基的环氧水合作用等。芬太尼类衍生物的 II 相代谢研究尚待深入,目前仅报道了甲基化、葡萄糖醛酸化和硫酸化等。大多数代谢产物用液相色谱-串联质谱(包括高分辨串联质

谱)分离鉴定^[26]。以芬太尼为例,目前已基本明确的代谢产物及转化途径见图 1。本文总结了已发现的芬太尼类衍生物的体内外代谢转化途径和代谢产物等,其类型以热图形式列于图 2,图中数字仅代表代谢产物的种类个数,与代谢产物的相对丰度无关。

总体而言,药用芬太尼类衍生物的主要代谢产物为 *N*-脱烷基化、羟基化产物及可能的 II 相结合产物;R₃酰胺基团改变后的芬太尼类衍生物,主要代谢产物中 *N*-脱烷基化产物丰度下降,羟基化产物丰度上升,还可能产生高丰度的完全去酰胺化代谢产物(如呋喃芬太尼代谢产生的 4-苯胺基-*N*-苯乙基哌啶, 4-anilino-*N*-phenethyl-piperidine, 4-ANPP)及其进一步的硫酸化产物,以及高丰度的 R₃酰胺基团

表 2 芬太尼类衍生物的体内外代谢体系研究现状

体外代谢模型或体内生物样本	代谢模型特点	分析物	代谢产物个数和种类
人肝微粒体	① 主要含有肝 CYP450 和 UGT 药物代谢酶;② 易获取,活性高,保存时间长,价格较低;③ 操作简单,重复性好,通量高	芬太尼 阿芬太尼 丁酰芬太尼 咪喃芬太尼 四氢咪喃芬太尼 奥芬太尼	3(I 相 3 种) ^[8] ,4(II 相 4 种) ^[9] 2(I 相 2 种) ^[10] ,4(II 相 4 种) ^[11] 8(I 相 8 种) ^[12] 8(I 相 7 种; II 相 1 种) ^[13] 7(I 相 7 种) ^[14] 4(I 相 3 种; II 相 1 种) ^[15]
人小肠微粒体	① 主要含有肠道 CYP450 和 UGT 药物代谢酶;② 来源受限,活性低,价格较高	芬太尼	4(I 相 4 种) ^[9]
原代人肝细胞	① 体外代谢研究的金标准,含有全谱系肝药物代谢酶;② 药物代谢酶表达具有可诱导性;③ 供应不稳定,细胞复苏生存率低,价格高;④ 个体差异大	丙烯酰芬太尼 甲氧乙酰芬太尼 2,2,3,3-四甲基环丙基芬太尼 环丙基芬太尼 环丁基芬太尼 环戊基芬太尼 环己基芬太尼 咪喃芬太尼 邻间对氟芬太尼 4-氟-异丁基芬太尼	8(I 相 7 种; II 相 1 种) ^[6] 10(I 相 9 种; II 相 1 种) ^[16] 10(I 相 9 种; II 相 1 种) ^[17] 8(I 相 6 种; II 相 2 种) ^[17] 10(I 相 10 种) ^[17] 10(I 相 10 种) ^[17] 10(I 相 10 种) ^[17] 13(I 相 12 种; II 相 1 种) ^[6] 14(I 相 13 种; II 相 1 种) ^[18] 9(I 相 8 种; II 相 1 种) ^[6]
HepaRG 细胞	① 具有较高的 I、II 相药物代谢酶活性;② 培养和诱导代谢酶表达的条件需要优化;③ 供应稳定,细胞复苏生存率 > 95%,价格较高	咪喃芬太尼	17(I 相 16 种; II 相 1 种) ^[13]
诱导人干细胞源性肝细胞	① 药物代谢研究的潜在工具;② 供应稳定,价格较高	芬太尼 乙酰芬太尼	7(I 相 6 种; II 相 1 种) ^[19] 6(I 相 5 种; II 相 1 种) ^[19]
人源化小鼠肝细胞	① 药物代谢酶的活性可高水平维持超过 4 周,可与药物一起培养至更长时间(可达 72 h);② 供应稳定,价格高	芬太尼 乙酰芬太尼	8(I 相 5 种; II 相 3 种) ^[20] 8(I 相 5 种; II 相 3 种) ^[20]
人组织	① 取样受限制;② 常用于过量服用药物而引起死亡时,研究药物体内吸收分布状态	丁酰芬太尼 甲氧乙酰芬太尼	4(I 相 4 种) ^[21] 4(I 相 4 种; II 相 0 种) ^[16]
人血液	① 由损伤性采样方式获得;② 取样量受限制;③ 可较好地体现化合物浓度与作用效果之间的关系	瑞芬太尼 丁酰芬太尼	2(I 相 2 种) ^[22] 4(I 相 4 种) ^[21] 14(I 相 13 种; II 相 1 种) ^[12]
人尿液	① 由非损伤性采样方式获得;② 取样量相对不受限制;③ 尿液中化合物浓度较高,但易受食物种类、饮水量等影响,浓度变化较大	丁酰芬太尼 丙烯酰芬太尼 甲氧乙酰芬太尼 咪喃芬太尼 邻间对氟芬太尼 4-氟-异丁基芬太尼	25(I 相 20 种; II 相 5 种) ^[12] 14(I 相 11 种; II 相 3 种) ^[6] 4(I 相 4 种) ^[16] 3(I 相 2 种; II 相 1 种) ^[23] 12(I 相 10 种; II 相 2 种) ^[6] 3(I 相 2 种; II 相 1 种) ^[18] 15(I 相 11 种; II 相 4 种) ^[6]
大鼠尿液	① 由非损伤性采样方式获得;② 取样量相对不受限制;③ 尿液中化合物浓度较高,但易受食物种类、饮水量等影响,浓度变化较大;④ 存在种属差异	α -甲基芬太尼 3-甲基芬太尼 异芬太尼	7(I 相 7 种) ^[24] 14(I 相 9 种; II 相 5 种) ^[25] 15(I 相 11 种; II 相 4 种) ^[25]

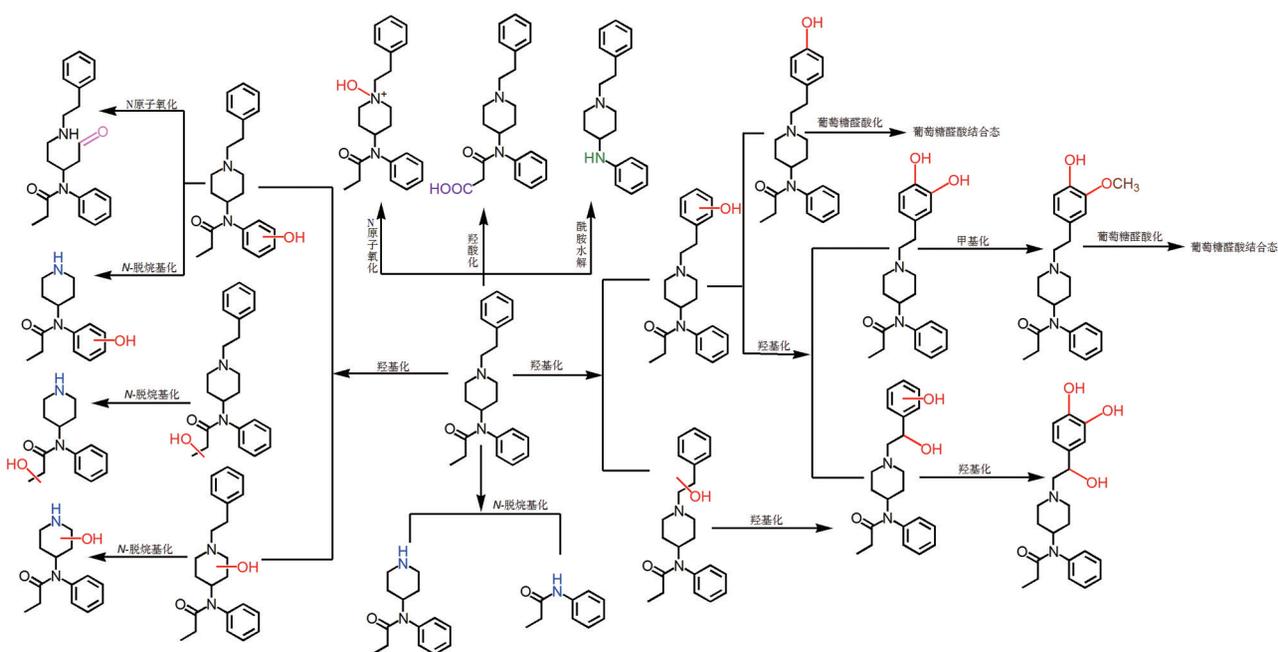


图1 芬太尼的代谢转化途径^[5, 8-9, 19-20, 27-28]。不同的代谢转化途径以不同颜色标示: N-脱烷基(蓝色)、羟基化(红色)、酰胺水解(绿色)、N原子氧化(粉色)、羧酸化(紫色)和葡萄糖醛酸化(橙色)。

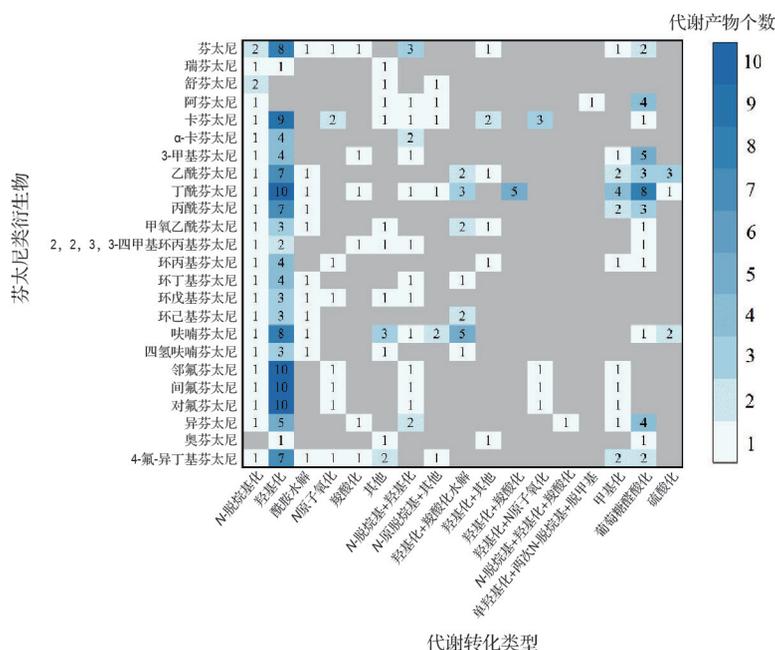


图2 芬太尼类衍生物的代谢产物类型。

的羧酸化代谢产物等(如羧酸化丁酰芬太尼)。

3.1 N-脱烷基

1968年, Wijngaarden等^[27]以雄性Wistar大鼠为模型,首次对芬太尼进行了体内代谢研究,揭示出N-脱烷基作用这一主要代谢途径,即在哌啶处脱去整个R₁基团。诺芬太尼是含量最丰富的代谢产物, Feierman等^[8]明确指出,芬太尼主要经CYP3A4酶作用后产生N-脱(苯乙基)的诺芬太尼,诺芬太尼在HLM中的K_m和V_{max}值分别为117 μmol·L⁻¹和3.86 min⁻¹。Schneider等^[28]采用豚鼠回肠纵肌电刺

激实验,测得诺芬太尼不具有阿片活性。Goromaru等^[29]给患者持续输注芬太尼(2.1~3.0 mg·kg⁻¹) 24 h后,患者尿液中诺芬太尼的排泄量占芬太尼初始给药剂量的8%~25%。Kanamori等^[19-20]将芬太尼分别与h-PRM-HEP, h-iPS-HEP和PXB细胞孵育,诺芬太尼分别为初始剂量的3.3%~14.5%, 13.8%和60%。

与芬太尼相似,诺乙酰芬太尼也是乙酰芬太尼最主要的代谢产物^[30]。经11 d培养的PXB细胞与乙酰芬太尼孵育48 h后,产生的诺乙酰芬太尼约占

初始乙酰芬太尼含量的 35%^[20]。Labroo 等^[9]将芬太尼与人十二指肠微粒体孵育后得到的主要代谢产物也为诺芬太尼,但平均代谢率约为肝代谢的一半。

N-脱烷基作用虽是芬太尼类衍生物主要的代谢转化途径,诺-代谢物也常被用作分析生物样本中芬太尼类代谢产物时的首要定性定量指标,但 *N*-脱烷基代谢在瑞芬太尼^[22]和呋喃芬太尼^[23]等芬太尼衍生物中只占较低比例。在瑞芬太尼中占比较低的原因是瑞芬太尼自身主要经酯酶水解;在后者中占比较低的原因则与 R_3 和 R_4 基团的修饰改变了生物转化反应活性直接相关。2017 年, Goggin 等^[23]发现,吸毒人员的 51 例呋喃芬太尼阳性尿样中,仅在 4 例尿液中检测到诺呋喃芬太尼且浓度极低;42 例尿液中均发现高丰度代谢产物酰胺水解产物 4-ANPP 及其硫酸盐结合物,提示芬太尼类衍生物的代谢转化并不总是与 *N*-脱烷基化反应有关,当芬太尼类衍生物的酰胺部分中的烷基基团被呋喃基取代时,会使代谢更易向酰胺基团水解的方向进行。

3.2 羟基化

芬太尼类衍生物经由 CYP 酶发生羟基化,是其另一主要代谢途径。目前已在多种新型芬太尼类衍生物的体内外代谢体系中发现了多种类型高丰度羟基化代谢产物。羟基化在芬太尼结构中的 4 个部分均可发生,其中最易发生在 R_1 上的苯环及 *N*-烷基链部位,最不易发生在苯胺基团(R_4)部位。按羟基化位点个数可分为单羟基、双羟基和三羟基代谢产物,三羟基代谢产物仅见于芬太尼^[28]和呋喃芬太尼^[6]。某些羟基化的具体位点至今仍未清楚阐释。

单羟基产物最为常见且含量较高,如 4'-羟基芬太尼。4'-羟基芬太尼(0.2%~2.4%)和 β -羟基芬太尼(0.9%~3.5%)是 h-iPS-HEP, h-PRM-HEP 和 PXB 细胞中生成的仅次于诺芬太尼的代谢产物^[19-20]。这与患者尿液中 4'-羟基芬太尼的排泄量占芬太尼初始剂量的 3%~6%,含量为次高的研究结果相吻合^[29]。CYP2D6 等参与了 4'-羟基芬太尼的产生,CYP3A4 参与了 β -羟基芬太尼、(ω -1)-羟基芬太尼和诺芬太尼的产生^[20]。另外,在芬太尼中毒人员的尿样中还检测到了诺芬太尼的羟基化产物^[31]。

2018 年, Kanamori 等^[20]首次确认了 4'-羟基乙芬太尼和 β -羟基乙芬太尼也是乙芬太尼在 h-iPS-HEP、h-PRM-HEP 和 PXB 细胞中生成的仅次于诺乙芬太尼的代谢产物,分别为初始乙芬太尼剂量的 2.7%~10.1% 和 0.5%~8.5%。经 11 d 培养的 PXB 细胞与乙芬太尼孵育 48 h 后,产生的 4'-羟基乙芬太尼和 β -羟基乙芬太尼约占初始

乙芬太尼含量的 9% 和 13%。与芬太尼相比,乙芬太尼仅是在 R_3 基团上由丙酰基改为了乙酰基,包括 4'-羟基、 β -羟基在内的羟基化产物就显著增加。

通过 β -葡萄糖醛酸酶、芳基硫酸酯酶水解前后相关代谢产物的含量变化,揭示出部分羟基化的芬太尼类代谢物是以葡萄糖醛酸化、或硫酸酯化的结合形式存在的^[6,20]。如芬太尼和乙芬太尼的 4'-羟基-代谢物和 4'-羟基-3'-甲氧基-代谢产物在 PXB 细胞中多数是以葡萄糖醛酸或硫酸结合物的形式存在;但 β -羟基芬太尼、 ω -羟基芬太尼和(ω -1)-羟基芬太尼则仅有一小部分与葡萄糖醛酸结合^[20]。

另外存在取代基环氧化水解后生成的二氢二醇类的羟基化产物。2017 年, Watanabe 等^[6]在混合人肝细胞体外实验中,发现二氢二醇呋喃芬太尼是仅次于 4-ANPP 的第二大代谢物,经环氧化作用和水解作用生成。此外,在 51 份来自呋喃芬太尼使用者的尿样中,44 份样本的二氢二醇呋喃芬太尼浓度与呋喃芬太尼相似^[23]。Labutin 等^[13]还在 1 名呋喃芬太尼使用者的尿样中检测到了 2 种羟基化的二氢二醇呋喃芬太尼。Krotulski 等^[14]将四氢呋喃芬太尼与 HLM 孵育,确定了 1 种四氢呋喃氧化后开环水解形成的新型代谢产物,该产物亦在体内代谢中的血液和尿液样本中发现。

一项评估几种芬太尼代谢物阿片类活性的早期研究发现,尽管大多数代谢物被认为是非活性的,但 4'-羟基芬太尼和其他羟基化代谢物可能具有生物活性。其中 4'-羟基芬太尼活性位于吗啡和哌替啶之间($ED_{50}=1.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,大鼠断尾实验)^[28]。具有活性的 β -羟基芬太尼是芬太尼的主要代谢产物之一^[20]。卡芬太尼在体外人肝细胞代谢体系中丰度最高的产物则为哌啶环(R_2)基团上的单羟基化产物。该产物和另一 R_1 基团上羟基化代谢物被认为具有进一步评估其活性的价值^[32]。

3.3 酰胺水解

鉴于结构上的强烈相似性,许多新型芬太尼类衍生物会经酰胺基团水解形成完全相同的代谢物,如 4-ANPP 便可由芬太尼^[31]、乙芬太尼、丙烯酰芬太尼^[6]、丁酰芬太尼^[12]和呋喃芬太尼^[23]等代谢形成。应注意的是,酰胺基团(R_3)经较大空间位阻基团修饰后,酰胺水解这一代谢转化过程占比增加。

另一方面,4-ANPP 亦是在芬太尼类衍生物合成过程中的前体化合物,通常与原型化合物一起存在于样品中。因此,检测到 4-ANPP 时,需仔细甄别其来源,虽可提供有关中毒方式的额外信息,但对于具体判别某种芬太尼类衍生物的存在或摄取时,

并不具有绝对的鉴定诊断意义。

3.4 N 原子氧化

N 原子氧化主要发生于哌啶环(R_2 的 N 原子), 另外酰胺基团(R_3 的 N 原子)亦可发生氧化^[18,32]。一般认为在强氧化条件下利于 N 原子氧化物的形成, 多在体外代谢实验中发现且含量更高, 如 Feasel 等^[32]鉴定了人肝细胞中卡芬太尼的 N-氧化物等。已有在大鼠尿液中发现异芬太尼的 N-氧化物的报道^[25]。

3.5 酯水解

酯基在酯酶的作用下水解生成相应羧酸的反应普遍存在于酯基取代的芬太尼类衍生物中, 如瑞芬太尼和卡芬太尼。瑞芬太尼是唯一一种被发现在血液和组织中 95% 由非 CYP 酶代谢的芬太尼类衍生物, 由芬太尼的苯乙基替换为酯基而得到, 该位点的酯基更易被非特异性组织和血浆酯酶快速水解。瑞芬太尼具有较短的作用时间(3~10 min), 主要代谢产物为瑞芬太尼酸, 其主要通过肾清除, 在人体内的消除半衰期为 88~137 min^[22,33]。瑞芬太尼酸仍具有一定活性, 但效力约为瑞芬太尼的 1/4000, 阿芬太尼的 1/8^[34]。

较之瑞芬太尼, 卡芬太尼的酯基部分具有更大的空间位阻, 酯基水解并不是卡芬太尼最主要的代谢途径。2016 年, Feasel 等^[32]研究表明, 卡芬太尼的主要代谢途径仍为 N-脱烷基化和羟基化(酰胺基团、哌啶环), 但在此之后仍可继续发生酯基水解反应。

3.6 羧酸化

当芬太尼类衍生物的 R_3 基团为烷基酰胺时, 烷基侧链经羟基化后可进一步氧化生成羧酸化代谢产物。例如, Andrea 等^[12]发现丁酰芬太尼经 HLM 孵育后的主要代谢产物为诺- ω -羟基-和苯乙基羟基化的丁酰芬太尼。然而与体外代谢转化不同的是, 丁酰芬太尼滥用者血液中的主要代谢产物为羧酸化丁酰芬太尼, 即丁酰基团羟基化后再羧酸化; 尿液中的主要代谢产物为羧酸化- ω -羟基-、苯乙基羟基化的丁酰芬太尼; 且与此同时血液和尿液中诺丁酰芬太尼的含量均较低。另外, 芬太尼的同分异构体异芬太尼(R_1 基团为苯甲基; R_2 基团为 3-甲基哌啶), 其 R_3 基团上仍为丙酰基, 此时其代谢物谱里也增加了羧酸化的异芬太尼^[25]; 类似情况还包括 3-甲基芬太尼等^[25]。提示 R_3 基团为烷基酰胺时, 也许羧酸化是一种普遍的代谢物类型。此点还有待在芬太尼类衍生物的代谢物谱中进一步证实。

3.7 甲基化

甲基化是药物代谢转化的常见 II 相反应类型

之一, 分为 O-甲基化、S-甲基化、N-甲基化等。其中催化 O-甲基化反应的酶为邻苯二酚-O-甲基转移酶(catechol-O-methyltransferase, COMT), 要求底物必须有儿茶酚(邻苯二酚)结构。当芬太尼类衍生物经双羟基化作用形成邻苯二酚结构时, 便可在 COMT 作用下生成 O-甲基化产物, 通常发生在 R_1 苯乙基及 R_4 苯胺基团上, 其中 R_1 基团更为常见^[12]。Kanamori 等^[19]在 h-PRM-HEP 细胞体外代谢体系中, 检测到代谢产物 4'-羟基-3'-甲氧基芬太尼、以及经中间代谢产物 3', 4'-二羟基乙酰芬太尼甲基化形成的 4'-羟基-3'-甲氧基乙酰芬太尼。2020 年的一份关于人肝细胞和中毒人员尿液的代谢谱研究表明, R_4 基团上为邻、间和对位氟代苯基时, 其 R_1 基团乙基上的单羟基代谢产物和苯环上的羟基+羟甲基代谢产物, 特征性强, 丰度较高^[18]。

3.8 葡萄糖醛酸化

葡萄糖醛酸化是最常见的 II 相结合反应, 通常含量较高、底物广泛。Steuer 等^[12]共报道了 36 种丁酰芬太尼的代谢产物, 其中 13 种 II 相代谢产物中的 8 种为葡萄糖醛酸结合产物。在芬太尼类衍生物中, 葡萄糖醛酸通常与单羟基化^[25]、二羟基化^[12]、O-脱甲基^[35]产物以及含有甲氧基的代谢产物^[6]共同作用生成葡萄糖醛酸结合产物。另外, 葡萄糖醛酸化反应更倾向于发生在 R_1 部分, 特别是苯乙基的苯环上。Kanamori 等^[20]用 β -葡萄糖醛酸酶或芳基硫酸酶水解 PXB 细胞培养基, 并测定芬太尼代谢物的含量与未经水解处理的对照组后发现, 4'-羟基芬太尼、4'-羟基-乙酰芬太尼、4'-羟基-3'-甲氧基芬太尼和 4'-羟基-3'-甲氧基-乙酰芬太尼大部分是与葡萄糖醛酸或硫酸结合的形式存在的, β -羟基芬太尼、 ω -羟基芬太尼和(ω -1)-羟基芬太尼只有很少一部分与葡萄糖醛酸结合。提示芬太尼的葡萄糖醛酸结合代谢产物可能是良好的候选暴露生物标志物。

3.9 硫酸化

硫酸化结合反应的特点是低容量和高亲和性, 一般认为, 酚类化合物等作为底物时在低浓度时以硫酸化为主, 高浓度时以葡萄糖醛酸结合为主。硫酸化通常使底物失活, 但也可能导致活化。目前, 硫酸化结合产物仅在乙酰芬太尼和咪喃芬太尼中被发现, 由原型化合物经羟基化或酰胺水解与硫酸化共同作用生成^[6,23]。虽然 Richeval 等^[13]在 HLM 和 HepaRG 细胞孵育体系中未检测到咪喃芬太尼的硫酸化产物, 但 Goggin 等^[23]采用非靶向高分辨质谱技术分析吸毒人员的 51 例尿液阳性样本时, 主要代谢产物仍然确认为硫酸化 ANPP(均值

90 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、二氢二醇代谢物(均值 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、4-ANPP(均值 39.6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),均高于原型化合物—呋喃芬太尼(均值 33.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。提示体内外代谢体系存在一定差异。

3.10 其他代谢类型

除上述代谢反应类型外,芬太尼类衍生物还可发生 *O*-去甲基等代谢反应。如舒芬太尼代谢产生少量 *O*-去甲基产物,其效价约为舒芬太尼的 10%^[5]。2018 年,针对奥芬太尼,Allibe 等^[15]检测到的 4 种体外代谢物分别为羟基化、*O*-去甲基、羟基化与 *O*-去甲基共同作用以及 *O*-去甲基与葡萄糖醛酸化共同作用的产物,但其主要代谢产物为 *O*-去甲基芬太尼。

4 中毒样本中的代谢产物检测

近年来,滥用致死的芬太尼类衍生物主要包括乙酰芬太尼、丁酰芬太尼、卡芬太尼、呋喃芬太尼、4-甲氧丁酰芬太尼、4-氟丁酰芬太尼和奥芬太尼等^[26]。表 3 总结了中毒样本的各种生物检材中芬太尼类衍生物的含量^[4,15,21,36-61]。目前的中毒检测仍以原型为主,受摄入方式、耐受程度、药物相互作用、生物学样本类型、死后再分布等因素影响,原型化合物的浓度范围差异较显著。Dwyer 等^[36]对于 41 例乙酰芬太尼过量死亡案例的测定表明,血液中乙酰芬太尼的浓度范围为 0.13 ~ 2100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,平均值为 169.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;Staeheli 等^[21]报道了一例丁酰芬太尼中毒患者死亡后 9 h 不同生物样本中的丁酰芬太尼含量,范围涵盖 2 个数量级。羧酸化及羟基化丁酰芬太

尼是其最高丰度的代谢物。

另外,中毒样本检测中的相关代谢产物筛查可有效延长检测的时间窗口,并可佐证机体的摄入与滥用。因此,毒物的代谢产物是良好的候选暴露生物标记物。关于新型芬太尼类衍生物的法医毒物检测正在成为临床毒理学和法医毒理学领域中的热点,初步揭示新型芬太尼衍生物的代谢谱出现了新特征。提示需要针对不同的芬太尼衍生物类型,结合丰度和特征结构,有针对性选择不同代谢产物为暴露生物标记物。如 Watanabe 等^[6]针对 4 种新型芬太尼类衍生物中毒事例,提出以下高丰度的特异性代谢产物可作为尿样中的暴露生物标记物:乙酰芬太尼的羟基甲氧基代谢物和单羟基代谢物;丙烯酰芬太尼的单羟基代谢物和双羟基代谢物;4-氟异丁基芬太尼的两种单羟基代谢物和一种羟基甲氧基代谢物;以及呋喃芬太尼的 4-ANPP 和二氢二醇代谢物。*N*-脱烷基化代谢物虽丰度较高,但损失了部分骨架信息(即丢失整个 R_1 基团),不是理想的暴露生物标志物。

我们认为,多种新型芬太尼衍生物的 II 相代谢产物亦可能是更好的暴露生物标志物。如乙酰芬太尼中毒人员尿液样本中筛查发现的 32 个代谢产物中的 10 个都是 II 相结合物,高丰度的 I 相代谢物如羟基甲氧基代谢物和单羟基代谢物均可形成其葡萄糖醛酸化和硫酸化的 II 相代谢产物^[6]。

5 结语

芬太尼类衍生物效价较高、致死量低、滥用致

表 3 中毒样本的各种生物检材中芬太尼类衍生物的含量

芬太尼类衍生物	血液/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				尿液/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	玻璃体液/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	脑/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	肝/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$
	股动脉血	心包血	静脉血	未区分				
芬太尼 ^[36-44]	1 ~ 60	1.8 ~ 139	—	2 ~ 383	2.9 ~ 1200	8 ~ 20	—	5.8 ~ 16 983
卡芬太尼 ^[4,45-46]	0.01 ~ 0.5	0.1 ~ 0.2	0.03	—	—	—	—	—
3-甲基芬太尼 ^[47]	—	—	—	0.3 ~ 0.9	—	—	—	—
乙酰芬太尼 ^[36, 38, 42, 48-51]	16 ~ 600	170 ~ 2100	220	—	240 ~ 3420	140 ~ 240	620	1000 ~ 1100
丁酰芬太尼 ^[21, 52]	66 ~ 145.2	39 ~ 220	—	—	64	32	93 ~ 200	41 ~ 57
丙烯酰芬太尼 ^[53-54]	0.01 ~ 5	—	—	—	—	—	—	—
呋喃芬太尼 ^[55-58]	0.4 ~ 42.9	2.8	—	—	—	—	—	—
奥芬太尼 ^[15, 59-60]	3.7 ~ 15.3	3.9 ~ 27.9	—	—	6 ~ 480	12.5	37.9	31.2
4-氟-异丁基芬太尼 ^[61]	—	—	—	91 ~ 112	200	—	248	902

无报道数据

死案例逐年攀升,对公众健康和国家安全构成严重威胁。其新结构不断涌现、代谢产物众多、体内中毒分布广泛等为临床救治、法医鉴定及政府管控等带来了严峻挑战。但目前相对于药用芬太尼,新型芬太尼类衍生物的代谢研究刚开始起步,筛查鉴定及定量检测时多局限于选择原型、*N*-脱烷基化产物及 4-ANPP 等,仍未形成对各类芬太尼类衍生物的代谢途径及产物特征的全面、科学认识。考虑到单一代谢产物不能准确追溯至原型,骨架上设计型修饰对代谢物谱改变明显,个体代谢酶表型差异、代谢相互作用等均可能改变化合物的代谢谱图等,我们提出,亟需在合理的体外模型指导下,对体内代谢数据进行验证,从而确认相关血液和尿液代谢产物。进一步开展建立代谢产物理论库、结合多种特征结构筛查得到新型、特征性强、溯源性强的暴露或效应标志物、完整阐述体内外时-量-效关系等研究工作,对新型芬太尼类衍生物的准确筛查鉴定、体内中毒溯源、生物标志物谱描述等具有重要价值。

参考文献:

- [1] Burns SM, Cunningham CW, Mercer SL. DARK classics in chemical neuroscience: fentanyl[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9(10): 2428-2437.
- [2] Vardanyan RS, Hruby VJ. Fentanyl-related compounds and derivatives: current status and future prospects for pharmaceutical applications[J]. *Future Med Chem*, 2014, 6(4), 385-412.
- [3] Pichini S, Pacifici R, Marinelli E, et al. European drug users at risk from illicit fentanyls mix[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8:785-786.
- [4] Shanks KG, Behonick GS. Detection of carfentanil by LC-MS-MS and reports of associated fatalities in the USA[J]. *J Anal Toxicol*, 2017, 41(6):466-472.
- [5] Wilde M, Pichini S, Pacifici R, et al. Metabolic pathways and potencies of new fentanyl analogs[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:238-253.
- [6] Watanabe S, Vikingsson S, Roman M, et al. *In vitro* and *in vivo* metabolite identification studies for the new synthetic opioids acetylfentanyl, acrylfentanyl, furanylfentanyl, and 4-fluoro-isobutyrylfentanyl[J]. *AAPS J*, 2017, 19(4):1102-1122.
- [7] Allibe N, Sam-lai NF, Willeman T, et al. Norcarfentanil: carfentanil misuse or remifentanil treatment? [J]. *Forensic Toxicol*, 2019, 37(2):488-495.
- [8] Feierman DE, Lasker JM. Metabolism of fentanyl, a synthetic opioid analgesic, by human liver microsomes. role of CYP3A4[J]. *Drug Metab Dispos*, 1996, 24(9):932-939.
- [9] Labroo RB, Paine MF, Thummel KE, et al. Fentanyl metabolism by human hepatic and intestinal cytochrome P450 3A4: implications for interindividual variability in disposition, efficacy, and drug interactions [J]. *Drug Metab Dispos*, 1997, 25(9):1072-1080.
- [10] Lavrijsen KL, Van houdt JM, Van dyck DM, et al. Is the metabolism of alfentanil subject to debrisoquine polymorphism? A study using human liver microsomes[J]. *Anesthesiology*, 1988, 69(4), 535-540.
- [11] Labroo R, Kharasch ED. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of alfentanil metabolites. Application to human liver microsomal alfentanil biotransformation[J]. *J Chromatogr B Biomed Appl*, 1994, 660(1):85-94.
- [12] Steuer AE, Williner E, Staeheli SN, et al. Studies on the metabolism of the fentanyl-derived designer drug butyrfentanyl in human *in vitro* liver preparations and authentic human samples using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) [J]. *Drug Test Anal*, 2017, 9(7):1085-1092.
- [13] Richeval C, Gicquel T, Hugbart C, et al. *In vitro* characterization of NPS metabolites produced by human liver microsomes and the HepaRG cell line using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) analysis: application to furanyl fentanyl[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2017, 18(10):806-814.
- [14] Krotulski AJ, Papsun DM, Friscia M, et al. Fatality following ingestion of tetrahydrofuranylfentanyl, U-49900 and methoxy-phencyclidine[J/OL]. *J Anal Toxicol*, 2018, 42(3): e27-e32 (2018-04-01) [2021-01-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29186585/>. DOI:10.1093/jat/bkx092.
- [15] Allibe N, Richeval C, Phanithavong M, et al. Fatality involving ocfentanil documented by identification of metabolites[J]. *Drug Test Anal*, 2018, 10(6): 995-1000.
- [16] Mardal M, Johansen SS, Davidsen AB, et al. Post-mortem analysis of three methoxyacetylfentanyl-related deaths in denmark and *in vitro* metabolite profiling in pooled human hepatocytes[J]. *Forensic Sci Int*, 2018, 290:310-317.
- [17] Åstrand A, Töreskog A, Watanabe S, et al. Correlations between metabolism and structural elements of the alicyclic fentanyl analogs cyclopropyl fentanyl, cyclobutyl fentanyl, cyclopentyl fentanyl, cyclohexyl fentanyl and 2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl fentanyl

- studied by human hepatocytes and LC-QTOF-MS [J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(1):95-106.
- [18] Gundersen POM, Åstrand A, Gréen H, *et al*. Metabolite profiling of ortho-, meta- and para-fluorofentanyl by hepatocytes and high-resolution mass spectrometry[J]. *J Anal Toxicol*, 2020, 44(2):140-148.
- [19] Kanamori T, Togawa Iwata Y, Segawa H, *et al*. Metabolism of fentanyl and acetylfentanyl in human-induced pluripotent stem cell-derived hepatocytes[J]. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41(1):106-114.
- [20] Kanamori T, Togawa Iwata Y, Segawa H, *et al*. Use of hepatocytes isolated from a liver-humanized mouse for studies on the metabolism of drugs: application to the metabolism of fentanyl and acetylfentanyl[J]. *Forensic Toxicol*, 2018, 36(2):467-475.
- [21] Staeheli SN, Baumgartner MR, Gauthier S, *et al*. Time-dependent postmortem redistribution of butyrfentanyl and its metabolites in blood and alternative matrices in a case of butyrfentanyl intoxication[J]. *Forensic Sci Int*, 2016, 266:170-177.
- [22] Westmoreland CL, Hoke JF, Sebel PS, *et al*. Pharmacokinetics of remifentanil (GI87084B) and its major metabolite (GI90291) in patients undergoing elective inpatient surgery[J]. *Anesthesiology*, 1993, 79(5): 893-903.
- [23] Goggin MM, Nguyen A, Janis GC. Identification of unique metabolites of the designer opioid furanyl fentanyl[J]. *J Anal Toxicol*, 2017, 41(5): 367-375.
- [24] Sato S, Suzuki S, Lee XP. Studies on 1-(2-phenethyl)-4-(N-propionylanilino)piperidine (fentanyl) and related compounds VII. Quantification of alpha-methylfentanyl metabolites excreted in rat urine[J]. *Forensic Sci Int*, 2010, 195(1-3): 68-72.
- [25] Meyer MR, Dinger J, Schwaninger AE, *et al*. Qualitative studies on the metabolism and the toxicological detection of the fentanyl-derived designer drugs 3-methylfentanyl and isofentanyl in rats using liquid chromatography-linear ion trap-mass spectrometry (LC-MS(n)) [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 402(3): 1249-1255.
- [26] Concheiro M, Chesser R, Pardi J, *et al*. Postmortem toxicology of new synthetic opioids[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:1210-1227.
- [27] Wijngaarden IV, Soudijn W. The metabolism and excretion of the analgesic fentanyl (R4263) by Wistar rats[J]. *Life Sci*, 1968, 7(23):1239-1244.
- [28] Schneider E, Brune K. Opioid activity and distribution of fentanyl metabolites[J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1986, 334(3): 267-274.
- [29] Goromaru T, Kawauchi T, Katashima M, *et al*. Urinary excretion of fentanyl and its metabolites at high-dose infusion[J]. *Masui*, 1986, 35(1):35-39.
- [30] Melent'ev AB, Kataev SS, Dvorskaya ON. Identification and analytical properties of acetyl fentanyl metabolites[J]. *Fresenius J Anal Chem*, 2015, 70(2): 240-248.
- [31] Mahlke NS, Ziesenitz V, Mikus G, *et al*. Quantitative low-volume assay for simultaneous determination of fentanyl, norfentanyl, and minor metabolites in human plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)[J]. *Int J Nanomed*, 2014, 128(5): 771-778.
- [32] Feasel MG, Wohlfarth A, Nilles JM, *et al*. Metabolism of carfentanil, an ultra-potent opioid, in human liver microsomes and human hepatocytes by high-resolution mass spectrometry[J]. *AAPS J*, 2016, 18(6):1489-1499.
- [33] Thompson JP, Rowbotham DJ. Remifentanil—an opioid for the 21st Century[J]. *Br J Anaesth*, 1996, 76(3):341-343.
- [34] Hoke JF, Cunningham F, James MK, *et al*. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanil, its principle metabolite (GR90291) and alfentanil in dogs[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 281(1):226-232.
- [35] Meuldermans W, van Peer A, Hendrickx J, *et al*. Alfentanil pharmacokinetics and metabolism in humans [J]. *Anesthesiology*, 1988, 69(4):527-534.
- [36] Dwyer JB, Janssen J, Luckasevic TM, *et al*. Report of increasing overdose deaths that include acetyl fentanyl in multiple counties of the southwestern region of the commonwealth of pennsylvania in 2015-2016 [J]. *J Forensic Sci*, 2018, 63(1): 195-200.
- [37] Anderson DT, Muto JJ. Duragesic transdermal patch: postmortem tissue distribution of fentanyl in 25 cases[J]. *J Anal Toxicol*, 2000, 24(7): 627-634.
- [38] Poklis J, Poklis A, Wolf C, *et al*. Postmortem tissue distribution of acetyl fentanyl, fentanyl and their respective nor-metabolites analyzed by ultrahigh performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. *Forensic Sci Int*, 2015, 257: 435-441.
- [39] Martin TL, Woodall KL, Mclellan BA. Fentanyl-related deaths in Ontario, Canada: toxicological findings and circumstances of death in 112 cases (2002–2004) [J]. *J Anal Toxicol*, 2006, 30(8): 603-610.
- [40] Coopman V, Cordonnier J, Pien K, *et al*. LC-MS/MS analysis of fentanyl and norfentanyl in a fatality due

- to application of multiple Durogesic transdermal therapeutic systems[J]. *Forensic Sci Int*, 2007, 169 (2-3): 223-227.
- [41] Rodda LN, Pilgrim JL, RM Di, *et al.* A cluster of fentanyl-laced heroin deaths in 2015 in Melbourne, Australia[J]. *J Anal Toxicol*, 2017, 41(4): 318-324.
- [42] Pearson J, Poklis J, Poklis A, *et al.* Postmortem toxicology findings of acetyl fentanyl, fentanyl, and morphine in heroin fatalities in Tampa, Florida[J]. *Acad Forensic Pathol*, 2015, 5(4): 676-689.
- [43] Bakovic M, Nestic M, Mayer D. Death by band-aid: fatal misuse of transdermal fentanyl patch[J]. *Int J Legal Med*, 2015, 129(6):1247-1252.
- [44] McIntyre IM, Gary RD, Estrada J, *et al.* Antemortem and postmortem fentanyl concentrations: a case report [J]. *Int J Legal Med*, 2014, 128(1): 65-67.
- [45] Swanson DM, Hair LS, Strauch Rivers SR, *et al.* Fatalities involving carfentanil and furanyl fentanyl: two case reports[J]. *J Anal Toxicol*, 2017, 41(6): 498-502.
- [46] Hikin L, Smith PR, Ringland E, *et al.* Multiple fatalities in the north of England associated with synthetic fentanyl analogue exposure: detection and quantitation a case series from early 2017[J]. *Forensic Sci Int*, 2018, 282:179-183.
- [47] Ojanperä I, Gergov M, Rasanen I, *et al.* Blood levels of 3-methylfentanyl in 3 fatal poisoning cases[J]. *Am J Forensic Med Pathol*, 2006, 27(4):328-331.
- [48] Fort C, Curtis B, Nichols C, *et al.* Acetyl fentanyl toxicity: two case reports[J]. *J Anal Toxicol*, 2016, 40 (9): 754-757.
- [49] McIntyre IM, Trochta A, Gary RD, *et al.* An acute acetyl fentanyl fatality: a case report with postmortem concentrations[J]. *J Anal Toxicol*, 2015, 39(6): 490-494.
- [50] Takase I, Koizumi T, Fujimoto I, *et al.* An autopsy case of acetyl fentanyl intoxication caused by insufflation of 'designer drugs'[J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2016, 21:38-44.
- [51] Yonemitsu K, Sasao A, Mishima S, *et al.* A fatal poisoning case by intravenous injection of "bath salts" containing acetyl fentanyl and 4-methoxy PV8 [J/OL]. *Forensic Sci Int*, 2016, 267:e6-e9 (2016-08-23)[2021-01-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27591912/>. DOI:10.1016/j.forsciint.2016.08.025.
- [52] Poklis J, Poklis A, Wolf C, *et al.* Two fatal intoxications involving butyryl fentanyl[J]. *J Anal Toxicol*, 2016, 40(8): 703-708.
- [53] Guerrieri D, Rapp E, Roman M, *et al.* Acrylfentanyl: another new psychoactive drug with fatal consequences[J/OL]. *Forensic Sci Int*, 2017, 277:e21-e29 (2017-05-22)[2021-01-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28587915/>. DOI:10.1016/j.forsciint.2017.05.010.
- [54] Butler DC, Shanks K, Behonick GS, *et al.* Three cases of fatal acrylfentanyl toxicity in the united states and a review of literature[J/OL]. *J Anal Toxicol*, 2018, 42(1):e6-e11 (2018-01-01) [2021-01-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29036502/>. DOI:10.1093/jat/bkx083.
- [55] Mohr ALA, Friscia M, Papsun D, *et al.* Analysis of novel synthetic opioids U-47700, U-50488 and furanyl fentanyl by LC-MS/MS in postmortem casework[J]. *J Anal Toxicol*, 2016, 40(9): 709-717.
- [56] Guerrieri D, Rapp E, Roman M, *et al.* Postmortem and toxicological findings in a series of furanylfentanyl-related deaths[J]. *J Anal Toxicol*, 2016, 41(3): 242-249.
- [57] Martucci HFH, Ingle EA, Hunter MD, *et al.* Distribution of furanyl fentanyl and 4-ANPP in an accidental acute death: a case report[J/OL]. *Forensic Sci Int*, 2018, 283:e13-e17 (2017-12-08) [2021-01-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29254806/>. DOI:10.1016/j.forsciint.2017.12.005.
- [58] Papsun D, Hawes A, Mohr ALA, *et al.* Case series of novel illicit opioid-related deaths[J]. *Acad Forensic Pathol*, 2017, 7(3):477-486.
- [59] Coopman V, Cordonnier J, de Leeuw M, *et al.* Ocfentanil overdose fatality in the recreational drug scene[J]. *Forensic Sci Int*, 2016, 266:469-473.
- [60] Dussy FE, Hangartner S, Hamberg C, *et al.* An acute ocfentanil fatality: a case report with postmortem concentrations[J]. *J Anal Toxicol*, 2016, 40(9):761-766.
- [61] Rojkiewicz M, Majchrzak M, Celinski R, *et al.* Identification and physicochemical characterization of 4-fluorobutyrfentanyl {1-[(4-fluorophenyl)(1-phenethylpiperidin-4-yl) amino] butan-1-one, 4-FBF} in seized materials and post-mortem biological samples[J]. *Drug Test Anal*, 2017, 9(3): 405-414.

Advances in metabolic transformation of fentanyl

LI Ze-hua¹, WANG Kai^{1,2}, XU Bin¹, ZHUANG Xiao-mei¹, ZHAO Jin³, GUO Lei¹, XIE Jian-wei¹

(1. *Institute of Pharmacology and Toxicology*, 3. *Center of Scientific Research Support, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*; 2. *Sanya Rehabilitation and Recuperation Center, Joint Logistics Support Force, PLA, Sanya 572000, China*)

Abstract: Fentanyl and its derivatives are potent agonists of μ opioid receptors. Pharmaceutical fentanyl is clinically used for analgesia and anesthesia. One of the side effects of analgesia with fentanyl is euphoria, which leads to increased abuse and even fatality related to pharmaceutical fentanyl or its derivatives in some parts of the world. To evade regulatory supervision, new fentanyl derivatives have been developed and posed a serious huge threat to public health and social security. An intimate knowledge of the metabolic characteristics of fentanyl and its derivatives is of great significance for accurate retrospective detection of poisoning following fentanyl exposure. The metabolic research models, metabolic pathways and properties of products of fentanyl and its derivatives are summarized in this article. To be more specific, fentanyl and its derivatives undergo various functionalizations (phase I metabolic reactions) under the action of cytochrome P450 enzymes, during which *N*-dealkylation and hydroxylation are the main metabolic pathways. Fentanyl is also capable of conjugation (phase II metabolic reaction) such as methylation, glucuronidation, and sulfation, and generate corresponding conjugates. The designed modification on the backbone of fentanyl can significantly change the corresponding metabolite spectra. It is suggested that it is impossible to use a single metabolite to trace the prototype, and that future research should focus on different metabolites based on the types of fentanyl derivatives. The metabolites of fentanyl are good candidates to exposure biomarkers. There is the urgent need to gain insights into the time-dose-effect relationship so as to accurately determine the profiles of exposure and effect biomarkers. This review is intended to provide data for metabolic transformation, screening and retrospective detection of fentanyl when they are used in clinical diagnosis and treatment, forensic identification, and regulation.

Key words: fentanyl derivatives; metabolism; substance abuse detection; biomarker

Foundation item: National Key Research and Development Program of China (2018YFC1602600)

Corresponding author: ZHAO Jin, E-mail:zhjs1975@163.com; GUO Lei, E-mail:guolei@bmi.ac.cn

(收稿日期: 2020-12-14 接受日期: 2021-02-18)

(本文编辑: 乔虹)