

## 第五章 毒粉毒尿的分析

### 5.1 液液萃取過程

#### GC 實驗：

磨成粉的藥錠取大約 30mg 溶解在 3.0mL, 0.2N KOH 溶液中，搖晃 5 分鐘後，我們再用 ethyl acetate (內含 diphenylamine at 0.5mg/mL 作為內標) 來萃取我們所需的物質。加入 3.0mL 的 ethyl acetate 搖晃 5 分鐘後，將混合物以 3000rpm 的速度離心 5 分鐘。取上層有機層 2mL 到小的樣品瓶中，並在萃取後當天分析。

#### CE 實驗：

藥錠粉末：1mg 的粉末以 methanol (1mL) 萃取。經超音波震盪器震盪兩分鐘及 5000rpm 離心兩分鐘後，收集上層液，並在萃取後當天分析。

尿液：1mL 的待測尿液，加入過量的  $K_2CO_3$  使尿液成鹼性。配製 hexane/ $CH_2Cl_2$  (3:1 v/v)，取 2mL 加入尿液中混合 1min 作為萃取出。離心後，收集上層有機液並抽乾；剩餘物質溶解於 10uL 的甲醇中，作為之後 CE 分析實驗所用。

### 5.2 S-(+)/(R)-(-)-MDA 與 S-(+)/(R)-(-)-MDMA 的鑑定

圖 5-1-A 為 R-MDA-S-TPC 和 S-MDA-S-TPC 混合物的 TIC 圖。圖上在 21.7min 偵測到的 peak 為 R-MDA-S-TPC，下方為其質譜斷裂

圖。另一個偵測到的 peak S-MDA-S-TPC 在 22.2min 的時間出現（在此不呈現其質譜資料）。圖 5-1-A 表示待測物中只有 MDA-TPC 而沒有其他雜質，所以接下來我們可以再一次用 column 分離並水解 sample 為 R(-)-或 S(+)-MDA。圖 5-1-B 上圖為 S-(+)-MDA 的 TIC 圖，下圖為其質譜圖。特殊裂片如 m/z 44 和 136 為其特徵，產物可再用分光儀來確定。

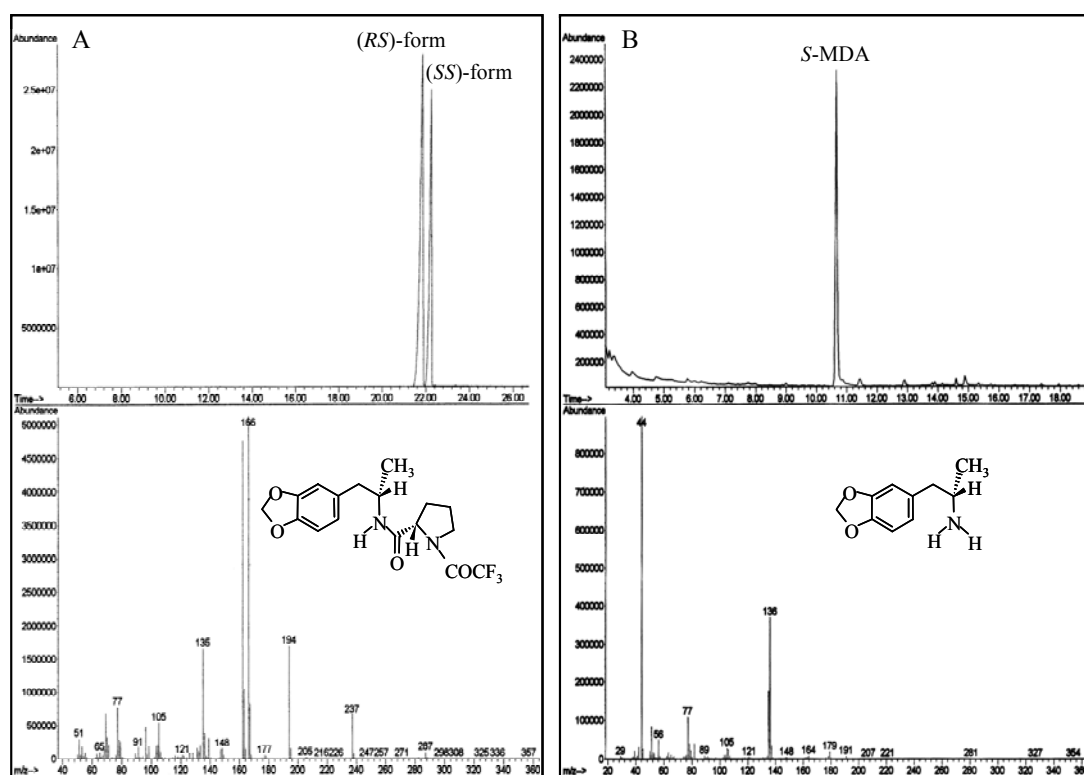


圖 5-1

(A) R-MDA-S-TPC 和 S-MDA-S-TPC 混合物的 TIC 圖 (上圖)

及其質譜圖 (下圖)

(B) S-(+)-MDA 的 TIC 圖 (上圖)，及其質譜圖 (下圖)

圖 5-2-A 為(RS)-MDA 典型的螢光 ( $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=280/320\text{nm}$ ) 電泳圖。上面 a 圖為(RS)-MDA，下面為 spike S-(+)-MDA 後之圖 b。CE 緩衝液為  $\beta$ -CD 50mM，磷酸水溶液 50mM 及 3M 尿素。毛細管總長度為 85 cm (有效長度為 80 cm) 使用電壓為 25kV ( $\sim 20\mu\text{A}$ )。在 29 分鐘出現的 peak 為 S-(+)-MDA(箭頭所指)，而在 28.5 分鐘出現的 peak 為 R-(−)-MDA。圖中另外又插入的小圖為在相同狀況下 S-(+)-MDA 的 CE 電泳圖，可與 spike 之後的圖作對比對。同理，圖 5-2-B 為 (RS)-MDMA spike with R-(−)-MDMA 加入前(圖 c)與加入後(圖 d)之螢光電泳圖；由圖 d 可知幾乎純的 R-MDMA 已成功的製備出來。因此我們下結論，幾乎純的 S-(+)/(R)-(−)-MDA 和 S-(+)/(R)-(−)-MDMA 被我們成功的製備出來，並可當作實驗室的標準品。

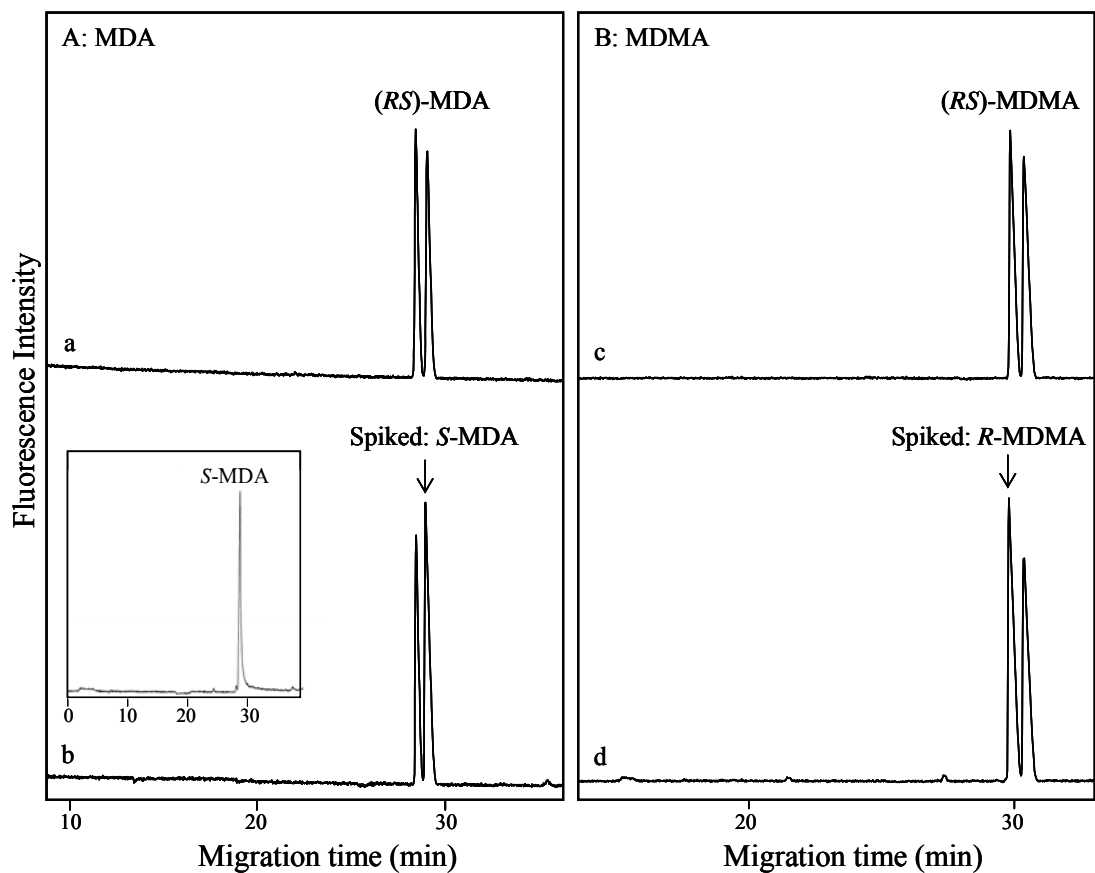


圖 5-2

(A) 典型的(R,S)-MDA 螢光電泳圖 ( $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 280/320\text{nm}$ )

(a) 在 spiking with (S)-MDA 之前 (b) 在 spiking with (S)-MDA 之後

(B) 典型的(R,S)-MDMA 螢光電泳圖 ( $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 280/320\text{nm}$ )

(a) 在 spiking with (R)-MDMA 之前 (b) 在 spiking with (R)-MDMA 之後

CE 緩衝溶液：50mM  $\beta$ -CD，3M 尿素，50mM 磷酸鹽，pH=3.0

毛細管總長 85 cm (有效長度 80 cm)，加電壓 25KV ( $\sim 20\mu\text{A}$ )，

樣品濃度 100ppm

### 5.3 MDA 和 MDMA 在藥錠上的分離和鑑定

表 5-1 為以 GC/MS 分析 427 個藥錠的實驗結果，由此可掌握 2001 年台灣犯罪市場的情況。實驗條件和方法描述於 3.1-2 中。大部分濫用的藥錠中不是有 MDMA 就是有 MDA。有些是 MDA 和 MDMA 兩者都有；只有一些藥錠有 DMMDA。為了比較 GC/MS 和 CE，我們選擇 3 個藥錠和這些藥錠的 GC/MS 之 TICs 圖，如圖 5-3-A 的層析圖 a-c。在 a-c 圖中停滯時間為 8.9 和 9.4 分鐘的 peaks，根據他們的質譜我們可判定分別為 MDA 和 MDMA；此外我們也發現到一些非螢光化合物，例如咖啡因和安非他命的出現。無論如何，我們的焦點是放在鑑定這些光學異構物在藥物中的分佈，但用 GC/MS 非常難鑑定；這三個藥錠的萃取液，由 CE 分離的結果表示在圖 5-3-B（電泳圖 d-f），CE 分離條件與圖 5-2 陳述的相似。圖中左邊的 peak 為 R(-) 和右邊為 S-(+)-isomers，兩者在藥錠中的比例約為 1，似乎在自然界中以相同的量出現。因此加入  $\beta$ -CD 以 CE 作分析較 GC/MS 簡單而快速。

表 5-1 以 GC-MS 分析影響台灣犯罪市場之 MDMA 及其相關化合物在 427 個藥錠之分佈概況

MDA	MDMA	DMMDA	BDB	MBDB	Numbers	Distributions
√					27	5.78 %
	√				420	89.94 %
√	√				15	3.21 %
√	√	√			4	0.86 %
	√	√			1	0.22 %

√: detected

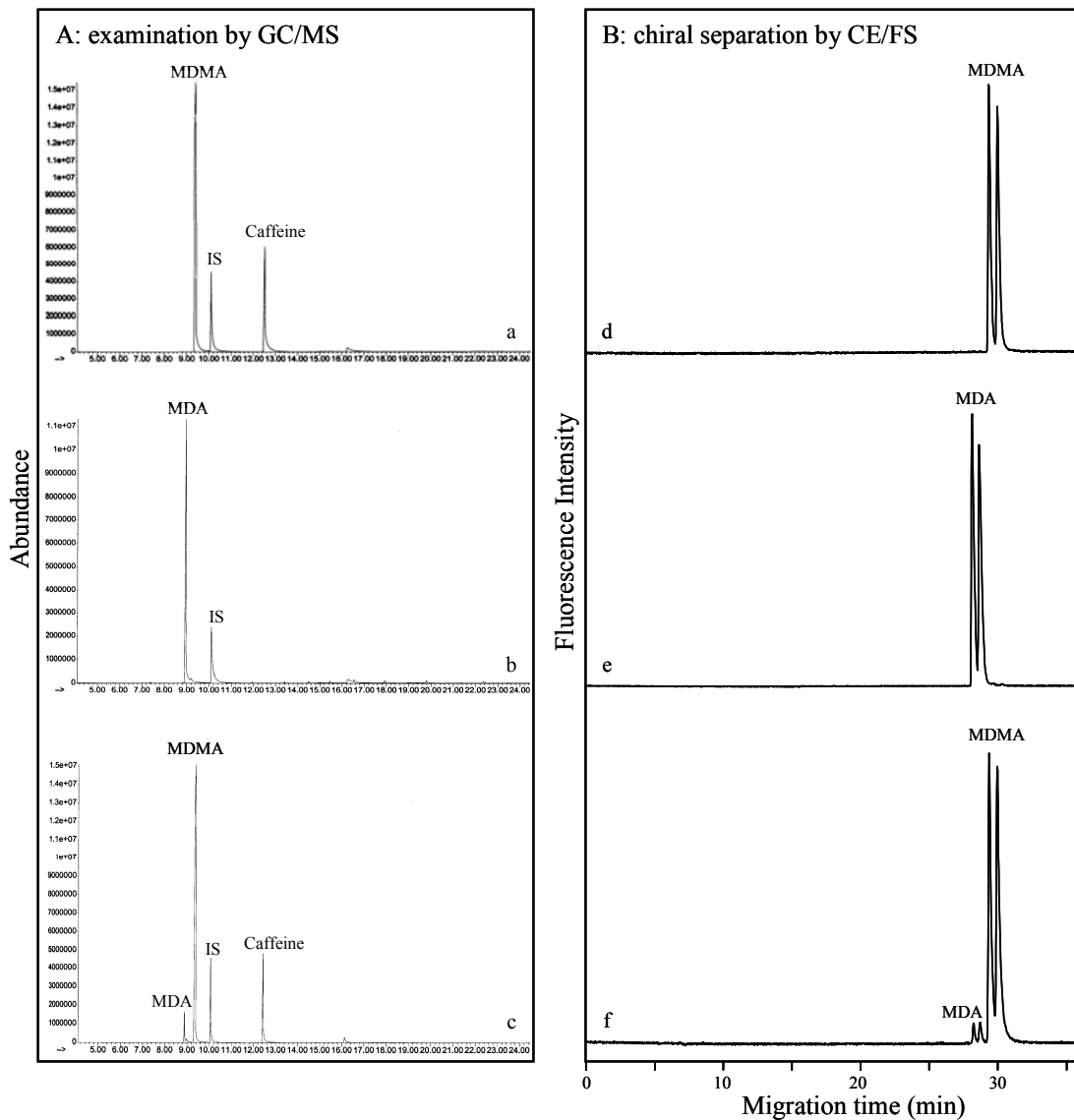


圖 5-3

(A) 挑選 3 種藥錠萃取之後的 GC/MS 層析圖

內標物為 diphenylamine hydrochloride

(B) 相同的 3 種藥錠萃取之後的 CE 電泳圖

CE 緩衝溶液：50mM  $\beta$ -CD，50mM 磷酸鹽，3M 尿素，

M:A:W = 14:4:82 (V/V/V)，pH = 3.0

## 5.4 MDA 和 MDMA 在可疑的尿液樣品中的分離與鑑定

研究動物實驗已經證實了有立體結構選擇性的藥物動力學和 MDMA 的神經毒素及相關化合物。致命的毒物中的 R-(-)和 S-(+)-MDMA 以及他的代謝產物 MDA 已經被 Poklis 等人用 GC/MS 製備出並報導出來。在他們的報導上，R-(-)-MDMA 的濃度有稍微比 S-(+)-MDMA 高（在尿液中，分別為 302 和 227mg/L）。在我們的研究中，我們取其中一個可疑的尿液萃取液以 CE 來做分離實驗（No III in 表 5-2），結果表示在圖 5-4。

表 5-2 10 種尿液樣品中，MDMA 和 MDA 之濃度值（mg/L）

No.	MDMA				MDA			
	R-	S-	total	R-form(%)	R-	S-	total	R-form (%)
I	9.4	7.5	16.9	125	ND	ND	---	---
II	17.8	13.2	31.0	135	0.3	3.8	4.1	7.9
III	34.4	26.5	60.9	130	0.8	2.0	2.8	38.0
IV	14.4	12.0	26.4	120	0.1	0.5	0.6	19.0
V	28.2	18.7	46.9	151	0.4	3.8	4.2	10.5
VI	6.5	4.7	11.2	138	0.7	0.4	1.1	175.0
VII	10.2	7.0	17.2	145	0.2	0.5	0.7	32.0
VIII	8.8	5.8	14.6	151	1.4	0.5	1.9	287.0
IX	11.5	8.3	19.8	138	4.2	1.6	5.8	269.0
X	28.8	24.0	52.8	120	ND	ND	---	---

ND: no detected



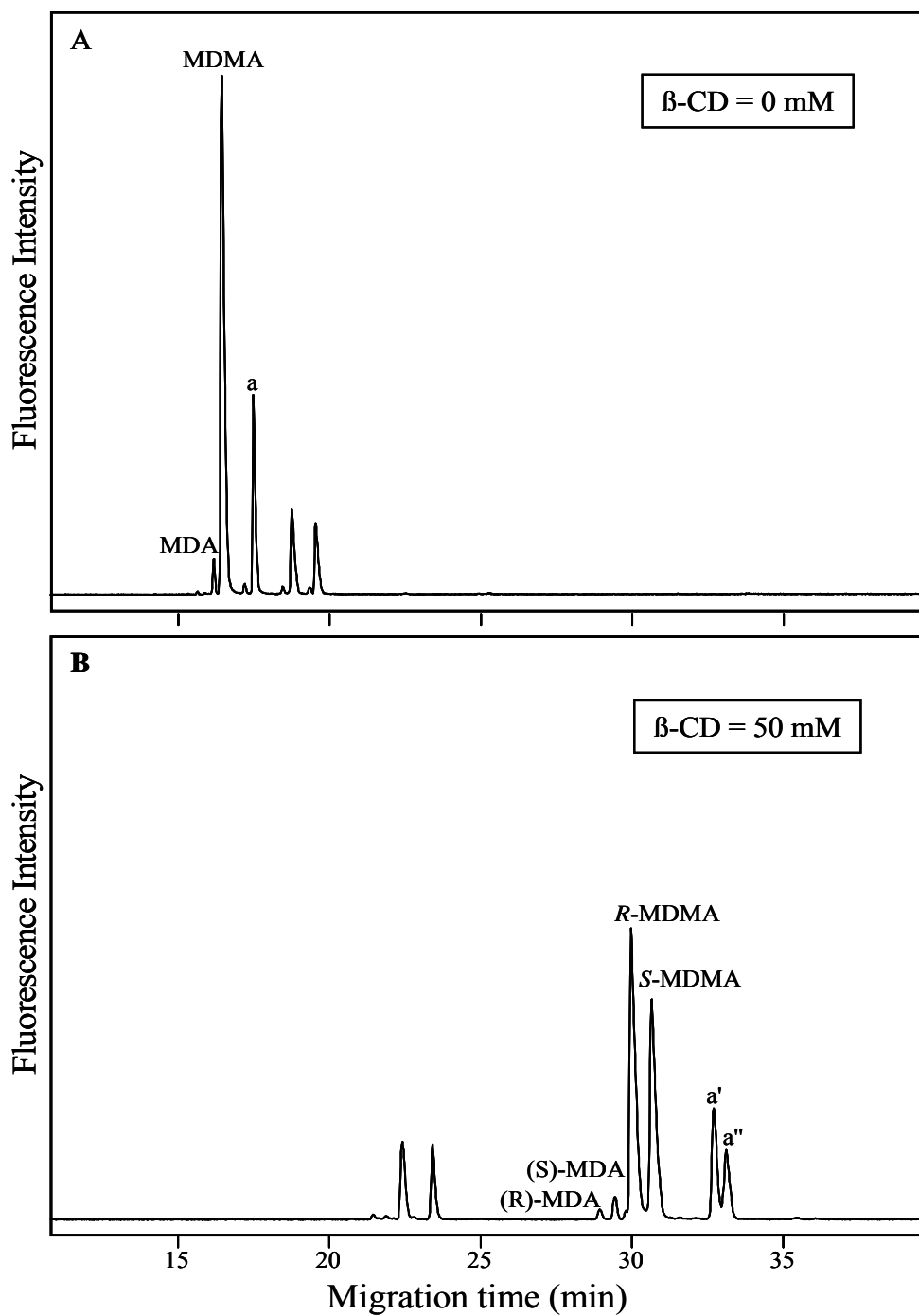


圖 5-4 No III 的尿液樣品萃取液之電泳圖

(A) 沒有加入  $\beta$ -CD (B) 加入 50mM 的  $\beta$ -CD

CE 分離條件如圖 5-2

圖 A (無  $\beta$ -CD), 圖 B (有 50mM $\beta$ -CD)。藉由 spike with 標準品, 瞭解 sample 中 MDMA 和 MDA 的位置並標示在圖上, 至於 peaks a-c 表示未知化合物。比較圖 A 和 B, 在加入  $\beta$ -CD 後, peak 被分裂為 2 個 peaks (a' 和 a''), 這表示光學異構物的出現。Spike with MBDB 標準品後發現 peak 重疊, 因此猜測可能有 MBDB, 但尚未用 GC/MS 做鑑定。另一方面, 典型人體中的尿液 samples 只有一些原始的螢光化合物出現, 波長範圍在  $320\pm 2\text{nm}$ 。有了螢光偵測器之後, 電泳圖用螢光偵測比用 UV 偵測簡單, 這是因為尿液中各種不同的有機化合物皆會吸收 UV, 使得電泳圖看起來極雜亂。這也提供了簡單的方法來觀察尿液中的非自然化合物如 MDMAs。使用相同的過程來調查 10 個可疑的尿液 samples, 並將結果顯示於表 5-2。在所有的抽樣調查分析中, R-(-)-MDMA 的濃度比 S-(+)-MDMA 高大約 1.2~1.5 倍, 這些資料與 Poklis 等人報導的一致, 他的報導為 R-(-)-S-(+)-MDMA 之比為 1.33, 表示人體對 s-form 吸收度較好。雖然在尿液中 R-(-)-MDA 的濃度低於 S-(+)-MDA (Poklis 等人報導), R-(-)-S-(+)-MDA 的比例為 0.44, 我們發現某些實驗數據顯然與報導的有矛盾 (參考表 5-2, 有 10 個螢光例子), 這是由於身體內 MDA 的再吸收與 MDMA 部份代謝為 MDA, 顯示比例不會維持常數

已經有報告指出在口服高劑量 125mg 及低劑量 75mg 之 MDMA 之後，約在 2 小時可達血中最高濃度 MDMA；同樣的，在口服 MDA 125mg 及 75mg 後，分別在 5-7 小時後可達血中最高濃度。而 MDMA 及 MDA 會經由 demethylation 及 N-dealkylation 代謝後產生 mono-及 di-hydroxy 的衍生物，接著還會與 glucuronic acid 或是 sulfate 形成 conjugate 而排於尿液。MDMA 的代謝物包括 MDA、HMMA、HHMA、HMA、HHA，如下圖。經過代謝後，尿液中約有 65% 會以原來的形式排出，其餘尿液中 24-72 小時皆可測得。而 10-15% 是以 MDA 排出，MDA 是 MDMA 的活性代謝物

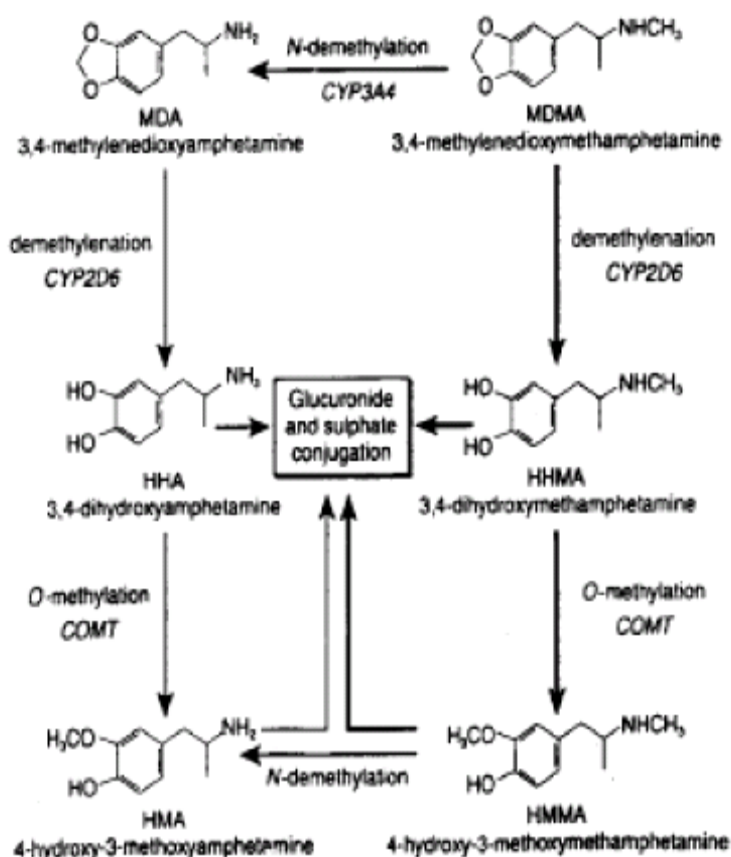


圖 5-5 MDMA 與 MDA 的代謝途徑