

# 科技部補助專題研究計畫成果報告 期末報告

## 濫用藥物檢驗之K他命難題新解

計畫類別：個別型計畫  
計畫編號：MOST 106-2113-M-040-003-  
執行期間：106年08月01日至107年12月31日  
執行單位：中山醫學大學醫學研究所

計畫主持人：張耀仁

計畫參與人員：博士班研究生-兼任助理：陳秀娟

報告附件：出席國際學術會議心得報告

中華民國 108 年 03 月 31 日

中文摘要：近年來台灣毒品氾濫的情況更為嚴重與快速，除了常見的濫用藥物外，更多種類的新興濫用藥物不斷的出現。同時，濫用藥物族群年輕化，更多的青少年被引誘，成為藥頭銷售的主流，對個人，對家庭、對社會與國家發展造成極大之傷害。因此不斷提升濫用藥物檢測能力，是不能被忽視的。有鑑於國內K他命濫用情況日趨嚴重，青少年更成為K他命毒品販售的主要族群，因此不斷提升濫用藥物檢測能力，是不容許被忽視的。本研究針對目前國內K他命之檢驗，以GC/MS進行確認檢驗要不要衍生化的問題進行探討，因使用不衍生化K他命及其代謝物之方式分析，其訊號強度較差，層析波峰較差，且有K與DHNK層析波峰重疊之問題。而若使用衍生化方式，NK與DHNK雖可順利衍生化，然而K他命會受到立體轉換與障礙影響，有衍生不佳之問題。更嚴重的是在真實樣品分析時，也競爭不過同時存在之其他胺類藥物，如安非他命類藥物之缺點，因此研究使用4CB衍生化法之策略，衍生NK與DHNK之衍生試劑，但完全不衍生K他命之衍生試劑。同時，本研究也評估發現：GC/MS之4CB衍生化分析方法適用於真實樣品中之K他命及其代謝物之分析。

中文關鍵詞：濫用藥物, 愷他命, 氣相層析質譜儀

英文摘要：Drugs of Abuse have become a c serious problem that continuously and progressively increasing in Taiwan. Recently, the young group become the main population of abused user. It is not only hazards to personal and family, but also social safety and national development. Therefore, it is important to enhance the drug testing. This research firstly focus on the presents testing methods of ketamine (K) and its metabolite with GC-MS. Methods with or without chemical derivation have problems among the GC-MS based methodologies. The serious problem happens when the real samples was found that it cannot use for other amine compounds that exist at the same time. Therefore, a novel method was developed for determination of K in urine samples by 4CB derivatization and gas chromatography mass spectrometry. The strategy was that the 4 CB derivated reagent can derivative well for NK and DHNK, but does not derive K at all. Compared with existing derivatization methods, This method provided a rapid, convenient, effective and low-cost way for gas chromatography method of K quantitation.

英文關鍵詞：Drugs of Abuse, Ketamine, Gas chromatography mass spectrometry

行政院 科技部 補助 專題研究計畫  期中進度報告  
 期末報告

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：MOST 105-2113-M-040-004

執行期間：106 年 08 月 01 日至 107 年 12 月 31 日

執行機構及系所：中山醫學大學 醫學研究所

計畫主持人：張耀仁

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

赴國外出差或研習心得報告

赴大陸地區出差或研習心得報告

出席國際學術會議心得報告

國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年  二年後可公開查詢

中 華 民 國 108 年 03 月 20 日

## 摘要

近年來台灣毒品氾濫的情況更為嚴重與快速，除了常見的濫用藥物外，更多種類的新興濫用藥物不斷的出現。同時，濫用藥物族群年輕化，更多的青少年被引誘，成為藥頭銷售的主流，對個人，對家庭、對社會與國家發展造成極大之傷害。因此不斷提升濫用藥檢測能力，是不能被忽視的。有鑑於國內K他命濫用情況日趨嚴重，青少年更成為K他命毒品販售的主要族群，因此不斷提升濫用藥物檢測能力，是不容許被忽視的。本研究針對目前國內K他命之檢驗，以GC/MS進行確認檢驗要不要衍生化的問題進行探討，因使用不衍生化K他命及其代謝物之方式分析，其訊號強度較差，層析波峰較差，且有K與DHNK層析波峰重疊之問題。而若使用衍生化方式，NK與DHNK雖可順利衍生化，然而K他命會受到立體轉換與障礙影響，有衍生不佳之問題。更嚴重的是在真實樣品分析時，也競爭不過同時存在之其他胺類藥物，如安非他命類藥物之缺點，因此研究使用4CB衍生化法之策略，衍生NK與DHNK之衍生試劑，但完全不衍生K他命之衍生試劑。同時，本研究也評估發現：GC/MS之4CB衍生化分析方法適用於真實樣品中之K他命及其代謝物之分析。

關鍵字：濫用藥物, 愷他命, 氣相層析質譜儀。

### 英文摘要

Drugs of Abuse have become a c serious problem that continuously and progressively increasing in Taiwan. Recently, the young group become the main population of abused user. It is not only hazards to personal and family, but also social safety and national development. Therefore, it is important to enhance the drug testing. This research firstly focus on the presents testing methods of ketamine (K) and its metabolite with GC-MS. Methods with or without chemical derivation have problems among the GC-MS based methodologies. The serious problem happens when the real samples was found that it cannot use for other amine compound s that exist at the same time. Therefore, a novel method was developed for determination of K in urine samples by 4CB derivatization and gas chromatography mass spectrometry. The strategy was that the 4 CB derivated reagent can derivative well for NK and DHNK, but does not derive K at all. Compared with existing derivatization methods, This method provided a rapid, convenient, effective and low-cost way for gas chromatography method of K quantification.

Key word: Drugs of Abuse, Ketamine, Gas chromatography mass spectrometry

## 前言

濫用藥物目前已經是一個全球性嚴重的社會問題，臺灣地區自 80 年代甲基安非他命盛行以來，多樣化的毒品層出不窮，近年來在臺灣各種濫用藥物氾濫的情況更為嚴重，其中以 K 他命最為嚴重，在過去十多年其數量增長約 15 倍之多！於行政院衛生部「臺灣地區緝獲毒品統計」資料中顯示，自 90 年 K 他命已列入法務部緝獲量前五名，於 95 年愷他命之緝獲量即名列第一，十多年來皆是 K 他命量獨占鰲頭，且幾乎佔每年占總數毒品的 70 % 以上。K 他命已成為濫用藥物者的新寵，也成為『入門毒品』或『上鈎毒品』的首選。

台灣與香港可能是世界上 K 最盛行的地區之一，儘管政府一再緝毒，顯然源頭控管 K 他命效率不彰。但因多次會議，皆無法把 K 他命列為二級毒品，在只有罰款沒刑責、不用強制勒戒，使得 K 毒輕易的在校園蔓延開來，而且黑洞愈來愈大。由教育部春暉專案數據顯示：2010 年至 2014 年共有 9,522 名學生遭通報藥物濫用，其中學生濫用毒品，9 成以上以皆是施用 K 他命，學生平均施用年齡是 17.3 歲(因有不少的夜校生)，最小可低至小學 5、6 年級。

K 他命最初由韋恩州立大學 (Wayne State University) 克雷格教授研發，於 1962 年交由派克-戴維斯 (Parke-Davis) 藥廠 (目前為輝瑞的子公司) 開發成較安全的麻醉藥，以取代會產生幻覺、神經中毒及癲癇等副作用較大的天使塵 (PCP, phencyclidine)。K 他命可用於人或動物麻醉，是一種速效、全身性麻醉劑，常用於診斷或不需肌肉鬆弛之手術，尤其適合用於短時間之小手術或全身麻醉時誘導之用。除了作為麻醉劑，K 他命亦因其鎮痛作用強，美國於越戰時廣泛應用。

K 他命雖然屬於中樞神經抑制劑，但在中低劑量時被發現具有特殊迷幻游離效果，因此成了近十年來，年輕族群熱門的娛樂用藥，俗稱 K 他命、K 仔、Special K、或卡門。一般 K 命命的濫用，吸食後作用時間約可維持 1-2 小時，但其副作用卻長達 16 至 24 小時，會影響吸食者感覺、協調及判斷力，並可產生噁心、嘔吐、複視、視覺模糊、影像扭曲、暫發性失憶及身體失去平衡等『飄飄然』的症狀。由於 K 他命會使人產生無助、失去對環境的知覺，並伴隨嚴重的協調性喪失及對疼痛感覺降低，此種情況往往會讓吸食者處於極度危險的狀況。長期使用不但影響身心健康更會產生耐藥性<sup>[3]</sup>及依賴性，不易戒除，且容易成為吸毒的入門藥物。K 他命可對身體產生不可逆永久傷害，最為人所知的高頻率的長期濫用導致尿道發炎，進而使膀胱纖維化而頻尿，大幅影響生活品質，而愈來愈多青少年與酒店小姐，因為拉 K 或吸食而手菸而導致膀胱萎縮，有的甚至容量只剩 10 CC，最後膀胱萎縮，終身需要包尿布。

K 他命曾在 70 年代研究作為憂鬱症等精神科藥物，80 年代在美國西岸開始有濫用跡象，亦有服用 K 他命後的中毒現象報告，各國開始限制對其應用，並將其列為危險精神科藥物等名錄以加強監控，1995 年時，隨著 K 他命濫用情形增加，因而導致犯罪率上升。當時被美國緝毒管理局 (Drug Enforcement Administration; DEA) 列入管制藥品的新興藥物之內，直到 1999 年才正式被列入管制藥品第三級<sup>[4]</sup>。2000 年後，K 命命的應用更開始加速變質，一些歌舞廳等娛樂場所中發現了 K 粉的濫用跡象，成為了 PUB 及其他類似活動裡常用的迷幻藥物，更成了約會強暴藥物。因此在許多國家中皆列為管制性藥品。而在台灣，因為 2001 年之前國內查緝 K 他命案件不多，而且管制 K 他命會造成醫療使用上的不便，而後來國內陸陸續續出現大量查獲 K 他命與檢測出濫用的案件，所以在管制藥品審議委員會，經過四次針

對 K 他命 是否列入毒品與管制藥品審查會議之後，我國亦於 2002 年將愷他命列為第三級管制藥品，加強管制。並於 2004 年施行之「濫用藥物尿液檢驗作業準則」，明確規範尿液中多項毒品之檢驗方法與閾值，其中愷他命代謝物之確認檢驗判定標準為：愷他命或去甲基愷他命之濃度須大於或等於 100 ng/mL，始可判定為愷他命陽性反應；同時檢出愷他命及去甲基愷他命時，兩種藥物之個別濃度均低於 100 ng/mL，但總濃度在 100 ng/mL 以上者，亦判定為愷他命陽性。

但因 K 他命屬於第三級毒品，吸食或持有並沒有太大罰則，因此在國內更為氾濫，是繼「快樂丸」(MDMA)後，近來已成 PUB、舞廳、夜店、KTV、轟趴派對等娛樂場所最流行之藥物。K 他命最流行施用方式為經由 K 煙吸食，或使用與類似古柯鹼施用方式，拉程長條再以紙管鼻吸，注射方式在國內較少見。施用後會產生幻覺、興奮感、意識混亂、與現實解離的經驗<sup>[5]</sup>，更容易吸引年輕新興人類族群，因此 Ketamine 早已多次在國內舉辦大型音樂祭、八家將表演比賽場合，甚至於國中、高中學生之畢業旅行中有多次查獲的紀錄。

由於毒販以吸食或持有 k 他命等之三、四級毒品，不會被處罰為藉口，引誘年輕人吸食毒品，導致施用 k 他命毒品人口大幅增加。而三、四級毒品是入門毒品，用過後，可能改用一、二級成癮性較高毒品，事後戒癮更是困難。近年來有研究指出，青少年期是使用成癮性藥物之關鍵期，在此階段使用非法藥物，未來使用其他非法藥物的機率，相對的升高，另一方面，越早接觸非法藥物者，日後成為固定使用者的機會也越高。終於 2009 年「毒品危害防制條例」公布修正，施用第三級、第四級毒品者，將處罰鍰及參加毒品危害講習，毒販不能以「拉 K 無罪」，誘引青少年吸食第三級（例如愷他命、FM2、一粒眠）、第四級（例如安定、蝴蝶片）等新興毒品，並藉由提高製造、運輸、販賣毒品之罰金法定刑、完備窩裡反條款，擴大破獲毒品上游及授權警察機關及時強制採尿檢驗權，使 Ketamine 濫用之歪風，稍微可以抑制。

Ketamine 可單獨使用，近年來亦發現與安非他命類藥物混合使用。安非他命類藥物包含：安非他命(Amphet amine, AP)、甲基安非他命 (Methamphetamine, MA) 及其結構相似的 MDA (3,4-methylenedioxyamphetamine)、亞甲雙氧甲基安非他命 (3,4-Methylenedioxy methamphetamine, MDMA)、MDEA (3,4- methylenedioxyethyl amphetamine)，皆是屬於中樞神經興奮劑<sup>[6,7]</sup>。2003 年 Yeh 等人發表的研究<sup>[8]</sup>報導，在舞廳場所使用藥物者，有高達 43%合併使用 ketamine 及 MDMA，顯示了在台灣這幾類藥物合併濫用的情況非常嚴重。而近年來 ketamine 和卡西酮類藥物合併濫用的嚴重情況。

有鑑於國內 K 他命濫用情況日趨嚴重，青少年更成為毒品販售的主流，K 菸之汙染更經常造成社區二手煙的問題，因此不斷提升濫用藥檢測能力，是不能被忽視的。本研究針對目前 GC/MS 之 K 他命檢驗方法之難題，進行確認檢驗要不要衍生化的問題進行探討。我們發現使用不衍生化法 K 他命及其代謝物之方式分析，其訊號強度較差，層析波峰較差，且有 K 與 DHNK 層析波峰重疊之問題。若使用衍生化方式，NK 與 DHNK 可順利衍生化，然而 K 他命會受到立體轉換與障礙之影響，有衍生之難題，而在真實樣品分析時，K 之衍生化也競爭不過同時存在之其他胺類藥物之缺點，因此研究將採用新的構想，使用半衍生化法之策略，可衍生 NK 與 DHNK 之衍生試劑，但完全不衍生 K 他命之 4CB 衍生試劑，並探討結合亞硝酸鈉衍生化之可行性。

# 研究材料與方法

## 藥品與試劑

甲醇(Methanol)，乙醇(Eethanol)，氨水(Ammonium hydroxide)，醋酸(acetic acid)，鹽酸(Hydrochloric Acid)，醋酸乙酯(Ethyl acetate)，氫氧化鈉(Sodium Hydroxide)，磷酸鹽緩衝溶液(Potassium dihydrogen phosphate)皆購買自 MERCK 公司(Darmstadt, Germany)。醋酸銨(Ammonium acetate solution)，碳酸氫銨(Ammonium bicarbonate)，衍生試劑三氟醋酸酐(Trifluoroacetic anhydride)、pentafluorobenzoyl chloride (PFBC) 購買自 Sigma 公司 (Louis, USA)。4-Carboethoxy hexafluorobutyryl chloride (4-CB) 購買自 Alfa aesar 公司。安非他命 (Amphetamine, AP)、甲基安非他命 (Methamphetamine, MA)、MDA、MDMA、K 他命 (Ketamine, K)、Norketamine (NK) 及其穩定同位素內標準品 (d5-Amphetamine, d5-Methamphetamine, d5-MDA, d5-MDMA, d4-Ketamine, d4-Norketamine, 皆購買自 Cerilliant 公司(Texas, USA)。

## 實驗設備

氣相層析質譜儀與分析條件：本研究所使用的氣相層析質譜儀，為 Agilent 公司出產之 6890 型氣相層析儀，搭配 5973 型四極式質譜儀及 Agilent 6890 系列之檢體自動注射器。GC 分析的毛細管柱為 HP - 5MS (5% phenyl methyl siloxane, 30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness; J&W Scientific, Folsom, CA, USA)，附載氣體為高純度氬氣 (99.999%)。

GC/MS 分析時所使用的條件：氣相層析與質譜儀中間之傳輸介面溫度為 280°C。儀器注射埠溫度為 275°C，採用不分流之注射方式，每次注入 2 μL；升溫程式為：初溫 175°C，維持 1 分鐘，以 10°C/min 升至 220°C，維持 1 分鐘後，最後在以每分鐘 30°C 至 280°C，總計一次分析時間為 8.5 分鐘。定性與定量分析採選擇離子監測模式 (selected ion monitoring, SIM) 進行。

## 實驗方法

### (一) 標準品測試

取藥物標準品(Ketamine、Norketamine) 100 ng /mL，在 55°C 條件下用氮氣吹乾，以 100 μL 乙酸乙酯回溶，每次打入 2 μL 進入 GC/MS 分析。

### (二) 衍生化試劑評估

將含有 500 ng /mL 的安非他命類及 100 ng /mL 的 ketamine 類標準品的樣品做三重複進行衍生劑的評估。將標準樣品吹乾後，溶於 50 μL 的乙酸乙酯，再分別加入不同的衍生試劑 100 μL (TFAA and PFBC)。TFAA 的衍生溫度為 90°C，衍生時間為 30 分鐘；PFBC 的衍生溫度 105°C，衍生時間皆為 60 分鐘。衍生後，皆以氮氣濃縮器在 55°C 下吹乾，最後溶於 100 μL 的乙酸乙酯，注射 2 μL 進行分析。評估以 4-CB 為衍生劑時，將標準樣品吹乾後，加入 200 μL 之 4-CB(4-CB:n-butyl chloride = 1:100) 以 55°C 進行衍生，衍生時間 30 分鐘，之後加入無水乙醇 300 μL，再衍生 30 分鐘，以氮氣濃縮器在 55°C 下吹乾，最後溶於 100 μL 的乙酸乙酯，注射 2 μL 進行分析。

### (三) 衍生化試劑競爭評估

取 5000 ng /mL 的安非他命及 5000 ng/ml 的甲基安非他命和 100 ng /mL 的 ketamine

類標準品的樣品混合後做三重複進行衍生劑競爭的評估。將標準樣品吹乾後，溶於 50  $\mu\text{L}$  的乙酸乙酯，再分別加入不同的衍生試劑 100  $\mu\text{L}$  (TFAA and PFBC)。TFAA 的衍生溫度為 90  $^{\circ}\text{C}$ ，衍生時間為 30 分鐘；PFBC 的衍生溫度 105  $^{\circ}\text{C}$ ，衍生時間皆為 60 分鐘。衍生後，皆以氮氣濃縮器在 55  $^{\circ}\text{C}$  下吹乾，最後溶於 100  $\mu\text{L}$  的乙酸乙酯，注射 2  $\mu\text{L}$  進行分析。評估以 4-CB 為衍生劑時，將標準樣品吹乾後，加入 200  $\mu\text{L}$  之 4-CB(4-CB:n-butyl chloride = 1:100) 以 55  $^{\circ}\text{C}$  進行衍生，衍生時間 30 分鐘，之後加入無水乙醇 300  $\mu\text{L}$ ，再衍生 30 分鐘，注射 2  $\mu\text{L}$  進行分析。

#### (四) 回收率評估

回收率是指分析物標準品經過前處理萃取過程後，其原始濃度與經由萃取之後所剩分析物濃度之比例。

未萃取組：取標準品 100 ng/mL 及內標準品各 100 ng/mL，在 55  $^{\circ}\text{C}$  條件下用氮氣吹乾及衍生化，每次打入 2  $\mu\text{L}$  進入 GC/MS 分析。

固相萃取組：先將 1mL 空白尿液加入標準品 K、NK，再經由 SPE 萃取純化，隨後加入內標準品，震盪後以氮氣 55  $^{\circ}\text{C}$  吹乾及進行衍生化反應，每次打入 2  $\mu\text{L}$  進入 GC/MS 分析，並以選擇離子監測模式評估。

#### (五) 最低偵測極限之評估

偵測極限 (limit of detection; LOD) 定義為此方法所能偵測到的最低濃度，除了評估定性離子和定量離子的強度比以外，定性離子之間的比例與標準品濃度的誤差也必須要求在  $\pm 20\%$  以內。

定量極限 (limit of quantitation; LOQ) 定義為此方法所能定量到的最低濃度。定性離子之間的比例和定量濃度與標準品濃度的誤差必須在  $\pm 20\%$  以內。

將 K、NK 之標準品配製濃度，為 5、10、25、50、100 ng/mL 之濃度，建立 5-100 ng/mL 之檢量線。我們先於空白尿液添加 K 及 NK 之標準品及其內標 100 ng/mL，將尿液進行固相萃取，氮氣吹乾後進行衍生化反應，每次打入 2  $\mu\text{L}$  進入 GC/MS 分析，在選擇離子監測方式下偵測。

#### (六) 檢量線建立

檢量線的點數應至少五點以上，並且檢量線範圍能涵蓋分析物濃度範圍。線性相關係數  $r^2$  值最好大於 0.995。將 K、NK 之標準品配製濃度，為 5、10、25、50、100 ng/mL 之濃度，建立 5-100 ng/mL 之檢量線。我們先於空白尿液添加 K 及 NK 之標準品及其內標 100 ng/mL，將尿液進行固相萃取，氮氣吹乾後進行衍生化反應，每次打入 2  $\mu\text{L}$  進入 GC/MS 分析，在選擇離子監測方式下偵測。

#### (七) 精密度 (Precision) 與準確度 (Accuracy) 之評估

為建立分析結果的可信度，避免人為操作或儀器誤差的變動差異，因而取低 (50 ng/mL)、中 (100 ng/mL)、高 (1000 ng/mL) 濃度的標準品，本實驗方法由低濃度開始依序進行儀器分析，將所得訊號分別帶入分析方法建立之檢量線，經過計算得到分析物濃度值 (即理論值) 除以原標準品所添加濃度 (即實際值)，所得之比值為本研究之準確度評估。而精密度用來表示分析方法的再現性 (Reproducibility) 如何，經過多次重複測定的結果，若分析數值集中於一段狹窄的分佈區域，表示精密度良好。實驗中評估低 (50 ng/mL)、中 (100 ng/mL)、高 (1000 ng/mL) 各藥物之濃度標準品重複檢驗五次，統計出平均值 (Mean)、標準偏差 (Standard deviation, SD)，計算其變異係數 (Coefficient of variation, CV%)，所得比值即為精密度評估。

#### (八) 安非他命類及 ketamine 類藥物同時檢測的評估

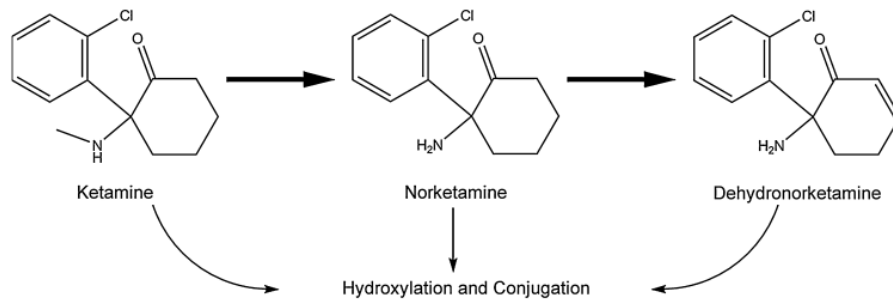


將 Amphetamine(AP)、Methamphetamine(MA)、Methylenedioxy

-amphetamine(MDA)、Methylenedioxymethamphetamine(MDMA)標準品各別配製成閾值濃度 500ng/mL 及 Ketamine(K)、Norketamine (NK)標準品配製成閾值濃度 100 ng/mL，混和後吹乾，分成兩組各別加入不同的衍生試劑 100  $\mu$ L PFBC，PFBC 的衍生溫度 105 $^{\circ}$ C，衍生時間為 60 分鐘。衍生後，皆以氮氣濃縮器在 55 $^{\circ}$ C 下吹乾，最後溶於 100  $\mu$ L 的乙酸乙酯，注射 2  $\mu$ L 進行分析。評估以 4-CB 為衍生劑時，將標準樣品吹乾後，加入 200  $\mu$ L 之 4-CB(4-CB:n-butyl chloride = 1:100) 以 55 $^{\circ}$ C 進行衍生，衍生時間 30 分鐘，之後加入無水乙醇 300  $\mu$ L，再衍生 30 分鐘，以氮氣濃縮器在 55 $^{\circ}$ C 下吹乾，最後溶於 100  $\mu$ L 的乙酸乙酯，注射 2  $\mu$ L 進行分析。

## 結果與討論

愷他命的化學式為  $C_{13}H_{10}ClNO$ ，分子量為 237.7，與 PCP(phencycline)同屬芳基環己胺類結構，半衰期為 2 至 3 小時，在血中可測得原態 K 他命(ketamine, K)、去甲基 k 他命(norketamine, NK)、去氫去甲基 K 他命(dehydronor ketamine, DHNK)等。



有鑑於國內 ketamine 濫用情況日趨嚴重，因此須有精確、快速、可靠的檢驗定量分析方法，作為遏阻藥物濫用的利器，也是落實執行毒品管制或管制藥品管理相關法律不可或缺的工具，進一步抑止藥物濫用的情況發生，才能達成反毒、防毒及安定社會秩序的最終目標。

### 1 Ketamine 及其代謝物之不衍生分析

ketamine近幾年來在亞洲地區造成極大之流行，特別是台灣，由於一直無法由毒品管制第三級提升使個人之吸食無罪。K他命之檢驗目前亦停留在有方法但不滿意之階段。初步檢驗方法雖有EMIT免疫分析試劑，但有假陽性過高之問題，而在確認檢驗上，GC-MS則發現常用於衍生胺類化合物之HFBA之衍生化方法雖可以用，但受到立體障礙影響，二級胺 K，有衍生效率不穩定之現象，因此近年來申請FDA認證之尿液檢驗實驗室，部分使用不衍生之分析策略。

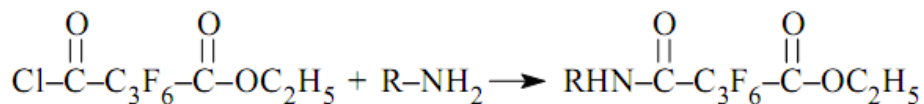
藉由本校附設醫院藥物檢測中心之協助，首先建立 K 和其代謝物 NK 之分析方法，GC/MS 分析時所使用的條件：氣相層析與質譜儀中間之傳輸介面溫度為 280 $^{\circ}$ C。儀器注射埠溫度為 275 $^{\circ}$ C，採用不分流之注射方式，每次注入 2  $\mu$ L。雖然可以輕易將 NK 和 K 分離：原態的 NK 標準品先於 5.42 分鐘析出，接著原態的 K 標準品於 5.70 分鐘析出。然而，在真實檢體中，因存在大量 NK 以下代謝物：dehydonorketamine (DK)，在分析時，原態的 K 和 DK 兩者的波峰幾乎重疊，無法達到好的分離效果。不過，由於我們使用的是質譜分析器，理論上應不受影響，而由 DK 之全掃描離子質譜圖，亦不存在會影響之離子。但是，事實上在真實樣品中，K 之同位素內標：d4-K (m/z 184) 受 DK 之影響極大，造成在真實尿液樣品檢驗的難題。我們嘗試改變升溫條件，希望把分離時間拉長，提升 K 與 DK 之分離效率，

但改善之效果極為有限。將尿液樣品稀釋後，是可以改善 K 和 DK 波峰重疊的問題。圖 3-7 為尿液真實樣品稀釋前後的層析圖，結果將樣品稀釋後 K 和 DK 的波峰重疊情形，比稀釋前的重疊狀況有改善。但是，雖然改善了波峰重疊的問題，也發現 K 的訊號強度隨著稀釋而降低。由於國內將 K 和 NK 的閾值定為 100 ng/mL，若真實樣品中，K 濃度在 100 ng/mL 附近，稀釋將無法解決問題。

## 2 Ketamine 及其代謝物之 4-CB 衍生分析

由於在真實檢體中，原態的 K 和 DK 時兩者的波峰容易重疊，不易分離；使用 TFA、HFBA 等衍生化試劑，有 K 衍生不完全的問題，而在真實尿液檢體中，有高濃度的安非他命類藥物存在下，K 之衍生競爭力更明顯不足，因此我們便嘗試採用更差衍生試劑，不去衍生 K 就好了。由劉瑞厚教授發表之各種衍生劑之文獻中<sup>[35]</sup>可知，BSTFA 與 4-CB 對於 NK 衍生化效果不錯，但對 K 衍生效果較差。經由實驗發現，於 4-CB 對 K 衍生效果最符合我們需要，因此，我們選用 4-CB 進行半衍生化策略之評估。進而探討 4-CB 於尿液真實檢體衍生後的 K 和 DK 分離效果；另外一分面，也評估在高濃度安非他命類藥物存在下，NK 對 4-CB 衍生試劑之競爭力的問題。

### 4-Carbethoxyhexafluorobutyryl chloride (4-CB)



同樣的，將 K 和 NK 標準品直接吹乾後，以 4-CB 55°C 衍生三十分鐘後，加入無水乙醇再衍生三十分鐘，吹乾，乙酸乙酯回溶，以 GC/MS 選擇離子監測模式進行分析，由層析圖中可以看出，原態的 K（不被 4-CB 衍生）與 NK-4-CB 分得很遠，K 於 5.49 分鐘析出，接著 NK-4-CB 於 8.61 分鐘析出。此時 K 訊號強度近乎原態，但 NK-4-CB 訊號強度為原態 NK 的 1.9 倍。

Compounds	Ions (m/z)	RT(min) (*底線為定量離子)
K-d4	<u>184</u> , 213	5.47
K	<u>180</u> , 182, 209	5.49
NK-4-CB-d4	<u>414</u> , 442	8.59
NK-4-CB	<u>410</u> , 438, 429	8.61
DK-4-CB	<u>368</u> , 436, 471	8.92

接著，我們將在含高濃度之 DK 真實尿液樣品中，可以看到以 4-CB 衍生後，尿液真實樣品中的 K、NK 和 DK 完全分離，沒有先前重疊的問題。不被衍生的 K 先於 5.43 分鐘析出，接著衍生後的 NK-4-CB 於 8.59 分鐘析出，最後的 DK-4-CB 於 8.92 分鐘析出，

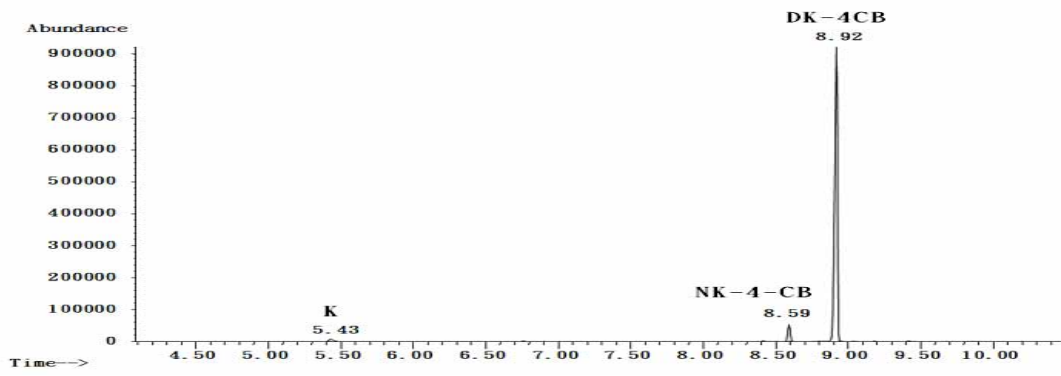


圖 1 4-CB 衍生之尿液真實樣品中 K、NK 和 DK 層析圖

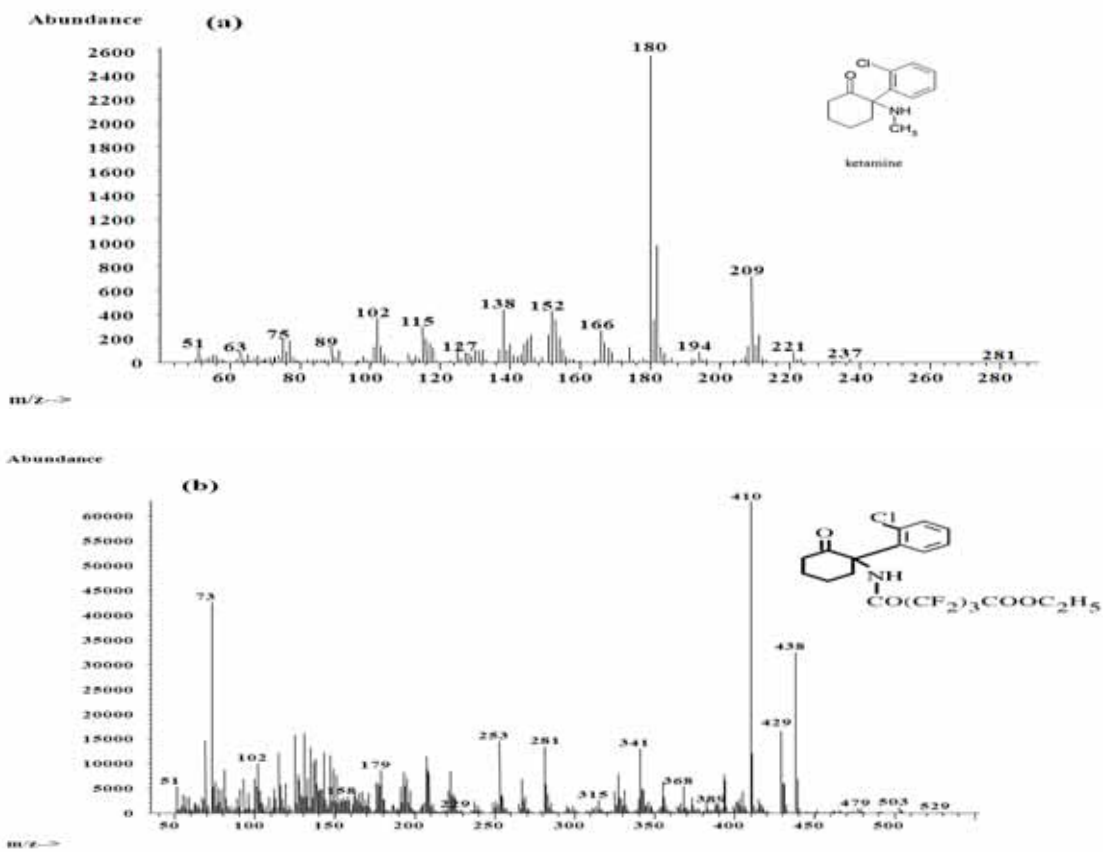


圖 2 (a)不衍生的 Ketamine 標準品 及(b)NK-4-CB 標準品 EI 圖譜

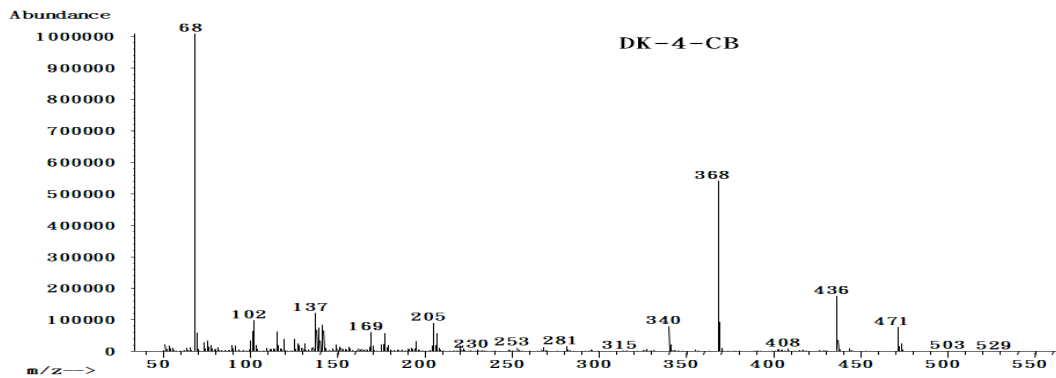


圖 3 使用 4-CB 衍生 DK 之 EI 全離子質譜圖。

而進一步評估存在高濃度的安非他命類藥物的狀況下，ketamine 和 NK 對於 4-CB 衍生試劑競爭，是否會受影響。因此模擬 ketamine 和 NK 在閾值 100 ng/ml 下，在同時存在高濃度的安非他命類藥物，對於 4-CB 衍生試劑之競爭的評估。首先，我們取 100 ng/mL 的 K 和 NK 標準品，置於玻璃試管內，直接吹乾，不衍生，以乙酸乙酯回溶後，並以 GC/MS 進行選擇離子監測模式分析，監測原態 K 和 NK 訊號強度。接著同樣取 100 ng/mL 的 K 和 NK 標準品，置於玻璃試管內，再加入高濃度安非他命(甲基安非他命 5000 ng/mL 和安非他命 5000 ng/ml)，混合後直接吹乾，以 4-CB 55°C 衍生三十分鐘後，加入無水乙醇再衍生三十分鐘，吹乾，乙酸乙酯回溶，以 GC/MS 選擇離子監測模式進行分析，監測原態 K 和 NK 及 TFAA 衍生後的 NK 之訊號強度，並進行三重複的分析。

結果發現當有安非他命類藥物濃度高濃度(甲基安非他命 5000 ng/mL 和安非他命 5000 ng/ml)的情況下，Ketamine 因為不被 4-CB 衍，如所預期，不會有競爭效應。NK-4-CB 幾乎完全被衍生，看不到原態 NK。更進一步，我們將安非他命類藥物的濃度增加一倍(甲基安非他命 10000 ng/mL 和安非他命 10000 ng/ml)，但發現 NK 的衍生率尚有  $85 \pm 5\%$ 。K 因為不會被 4CB 衍生，則完全不受影響，因此，當大量安非他命類藥物存在下，若以 4-CB 為衍生化試劑是可行的。

## 參考文獻:

1. Ng S. H., Tse, M. L., Ng H. W. and F. L. Lau Emergency department presentation of ketamine abusers in Hong Kong: a review of 233 cases. *Hong Kong Med J.* 2010;16(1):6-11
2. Han E., Kwon N. J., Feng L.Y., Li J. H. and Chung H. Illegal use patterns, side effects, and analytical methods of ketamine. *Forensic Sci Int.* 2016; 268: 25-34.
3. Lankenau S. E. and Clatts M.C. Ketamine injection among high risk youth: preliminary finding from New York city. *J of Drug issues* 2002 : p. 583-588.
4. Baselt R. C., and Cravey R. H. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, 4th ed. Chemical Toxicology Institute, Foster City, CA, 1995, pp 412-414.
5. Moore N. N. and Bostwick J. M.. Ketamine dependence in anesthesia providers *Psychosomatics* 40:356-359 (1999).
6. Henry J. A., Jefferys K. J., and Dawling S. Toxicity and deaths from 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). *Lancet.* 340:384-387 (1992).
7. Stone D. M., Johnson M., Hanson G. R., Gibb J. W.. A comparison of the neurotoxic potential of methylene-dioxyamphetamine (MDA) and its N-methylated and N-ethylated derivatives. *Eur J Pharmacol.* 134:245-248 (1987)
8. Lua A. C., H. Lin R., Tseng Y. T., Hu A. R., Yeh. P. C. Profiles of urine samples from participants at rave party in Taiwan: prevalence of ketamine and MDMA abuse. *Forensic Sci Int* 136:47-51 (2003).
9. Hijazi Y., Boulieu R. Contribution of CYP3A4, CYP2B6, and CYP2C9 isoforms to N-demethylation of ketamine in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 2002;30(7):853-858.
10. Hijazi Y., Bolon M., and Boulieu R.. Stability of ketamine and its metabolites norketamine and dehydronorketamine in human biological samples. *Clin Chem.* 47:1713-1715 (2001).
11. Moore K. A., Sklerov J., Levine B., and Jacobs A.. Urine concentration of ketamine and norketamine following illegal consumption. *J Anal Toxicol.* 25:583-588 (2001).
12. Wang K. C., Shih T. S., Cheng S. G. Use of SPE and LC/TIS/MS/MS for rapid detection and quantitation of ketamine and its metabolite, norketamine, in urine. *Forensic Science International* 147 (2005) 81-88
13. Chen C.Y., Lee M. R., Cheng F. C., Wu G. J. Determination of ketamine and metabolites in urine by liquid chromatography mass spectrometry. *Talanta* 72 (2007) 1217-1222

14. Lin, H. R. and Lua, A. C. 2006. Simultaneous determination of amphetamines and ketamines by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20: 1724-1730.
15. Lin, H. R. and Lua, A. C. 2004. Detection of acid labile conjugates of ketamine and its metabolites in urine samples collected from pub participants. *J. Anal. Toxicol.* 28: 181-186.
16. Lin, H. R. and Lua, A. C. 2005. A fast GC-MS screening procedure for ketamine and its metabolites in urine samples. *J. Food Drug Anal.* 13: 107-111.
17. Chou, S. L., Yang, M. H., Ling, Y. C. and Giang, Y. S. 2004. Gas chromatography isotope dilution mass spectrometry preceded by liquid-liquid extraction and chemical derivatization for the determination of ketamine and norketamine in urine. *J. Chromatogr. B* 799: 37-50.
18. Wu, C. H., Huang, M. H., Wang, S. M., Lin, C. C. and Liu, R. H. 2007. Gas chromatography–mass spectrometry analysis of ketamine and its metabolites a comparative study on the utilization of different derivatization groups. *J. Chromatogr. A* 1157: 336-351.
19. Cheng, P. S., Fu, C. Y., Lee, C. H., Liu, C. and Chien, C. S. 2007. GC-MS quantification of ketamine, norketamine, and dehydronorketamine in urine specimens and comparative study using ELISA as the preliminary test methodology. *J. Chromatogr. B* 852: 443-449.
20. Lian K, Zhang P, Niu L, Bi S, Liu S, Jiang L, Kang W. A novel derivatization approach for determination of ketamine in urine and plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2012 16; 1264:104-9.

# 科技部出席國際學術會議報告

108 年 3 月 25 日

報告人姓名	張耀仁	校院 (科系所)	中山醫學大學 醫學研究所
時間 會議 地點	2018/06/03 ~ 07  美國加州聖地牙哥		
會議 名稱	(中文) 第 66 屆美國質譜年會 (英文) 66 THE ASMS CONFERENCE ON MASS SPECTROMETRY		
發表 論文 題目	(中文) (英文) Differentiate “Brown Mixture” ingestion and heroin use by monitoring Antimony in urine		

## 一、參加會議經過

2018年6月2日搭乘直飛洛杉磯班機，再轉機飛往聖地牙哥機場班機。在洛杉磯出關轉機時，等待時間需花費很久，經長榮人員之安排，直接走快速管道檢驗證件，經過一番舟車勞頓，總算於當地時間6月2日下午約12點抵達目的地 --- 聖地牙哥。

當天即前往大會現場報到註冊後，便展開了為期五天充實的會議行程。早上七點參加各質譜廠商之儀器應用之新發展介紹，緊接著是每天早上和下午之兩小時的 Oral Sessions，在同一時段內，在八個不同的會議廳裡分成八個不同的大主題，每15分鐘一位講者，而在這 Oral Sessions 中間有四小時的 poster session and exhibits 時間。每天約有近800多張學術海報發表，4天的會議近3000張的主題，透過大會先進 APP 功能，先鎖定特定主題瀏覽海報，面對有趣之處，與海報的作者討論交流，並尋找新的研究主題。為期五天的研討會，每天參與不同的 oral sessions、workshops、breakfast seminar 過得相當充實。

## 二、與會心得

美國質譜學會年會(ASMS Conference Mass Spectrometry)是由美國化學學會所屬之質譜學會(American Society of Mass Spectrometry, ASMS)所舉辦之大型國際性會議，ASMS 固定每年六月初舉辦，早已成為學者、研究者與廠商之交流重要聚會，長年以來也成為每年全世界最大型之質譜會議。為促進相關質譜技術開發與各種應用，在大會安排議程中，除各領域應用技術之開發及儀器之發展前瞻性論文，報告及海報論文外，並有全世界質譜儀各廠牌之廠商產品展示，以提供最新型儀器功能介紹。

整個 ASMS 學術會場還是以生物分子之質譜研究為主，如：蛋白體、代謝體、酯質體、醣質體、、、、等等，而儀器介面開發、小分子質譜分析、毒藥物分析、重金屬分析等雖然比例較低，但仍有其固定之分量，大家互相討論獲益不小。而亦有許多華人進行 core-shell 管柱之製作、蛋白體或常態游離源之儀器，台灣亦有廠商前往參展，其最吸引人是譜光儀器公司之常壓離子偵測器，可作為 IMMS 之偵測器，吸引不少學者與廠商的注意。而手術台上之即時質譜偵測，包含美國與英國各自發展的兩種不同技術，亦顯得成熟許多。

會議傍晚亦針對各種不同領域而安排了許多實用之 workshop，提供充分時段，讓使許多質譜相關實務工作者，可以發表其工作歷程，因為不是人人可以當學者，走入產業可以有更大的就業空間，創造更多元的產值。因此發現，對年輕學生未來選擇職場幫助極大，完成博士學位也可在製藥、研發、檢測、儀器、鑑識科學、醫療應用等等作更大之貢獻。

而周一至周三晚上，則有各大質譜廠商所舉辦之 Hospitality 儀器展示晚會，讓與會人士與各廠商能互相交流，讓筆者收穫良多。其中，安捷倫與島津公司推出的新的 GC-MS 設計，換管柱設計，新的游離源與聚焦裝置等。Thermal 則不斷改進其高階 OB TRAP，而在島津公司所看到的 VR 影像的導入，使觀看者如帶電的離子，由電噴灑游離，進入四級柱串聯質譜儀中，身歷其境的體驗，亦代表 VR 影像教學，可使學生想像力提升，對於質譜的學習，將有莫大之幫助。

會場亦注意到安捷倫所推出的小型液相層析串聯質譜儀，只比一般 LC 之 PUMP 大一些，雖售價也相近一般大型液相層析串聯質譜儀，其感度與一般大型液相層析串聯質譜也相近，但耐髒度仍待評估，但其不占空間是一大優勢，對於有空間不足的醫學實驗室，將是可以考慮之產品，然仍很難評估未來購買的數量，因若成為孤兒機種，維修將成為問題。

總之，雖然 ASMS 仍像往常一樣，參展的海報、演講與廠商仍十分盛大，但總覺得質譜儀的發展，似乎已到一個成熟期，沒太多新鮮的、令人興奮的研究或儀器的推出，也許是筆者近年來專注於毒品檢驗，與會的相關人士較少，以至於有孤寂之感。筆者本次發表的海報 Differentiate “Brown Mixture” ingestion and heroin use by monitoring Antimony in urine 是以去年科技部計畫成果為主之研究，雖美國大多已沒有使用 Brown Mixture 藥物，但仍吸引不少華人得注意。不過本次台灣與會之老師與學生人數有 30 人以上，仍循舊制於周二晚上與美國華人聚餐，大家交流討論亦有不少收穫。



106年度專題研究計畫成果彙整表

計畫主持人：張耀仁			計畫編號：106-2113-M-040-003-			
計畫名稱：濫用藥物檢驗之K他命難題新解						
成果項目			量化	單位	質化 (說明：各成果項目請附佐證資料或細項說明，如期刊名稱、年份、卷期、起訖頁數、證號...等)	
國內	學術性論文	期刊論文		0	篇	
		研討會論文		0		
		專書		0	本	
		專書論文		0	章	
		技術報告		0	篇	
		其他		0	篇	
	智慧財產權及成果	專利權	發明專利	申請中	0	件
				已獲得	0	
			新型/設計專利		0	
		商標權		0		
		營業秘密		0		
		積體電路電路布局權		0		
		著作權		0		
		品種權		0		
		其他		0		
	技術移轉	件數		0	件	
		收入		0	千元	
	國外	學術性論文	期刊論文		0	篇
			研討會論文		0	
			專書		0	本
專書論文			0	章		
技術報告			0	篇		
其他			0	篇		
智慧財產權及成果		專利權	發明專利	申請中	0	件
				已獲得	0	
			新型/設計專利		0	
		商標權		0		
		營業秘密		0		
		積體電路電路布局權		0		
		著作權		0		
		品種權		0		
其他		0				

	技術移轉	件數	0	件	
		收入	0	千元	
參與計畫人力	本國籍	大專生	0	人次	
		碩士生	0		
		博士生	1		陳秀娟
		博士後研究員	0		
		專任助理	0		
	非本國籍	大專生	0		
		碩士生	0		
		博士生	0		
		博士後研究員	0		
		專任助理	0		
其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)					

## 科技部補助專題研究計畫成果自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現（簡要敘述成果是否具有政策應用參考價值及具影響公共利益之重大發現）或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以100字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形（請於其他欄註明專利及技轉之證號、合約、申請及洽談等詳細資訊）

論文： 已發表  未發表之文稿  撰寫中  無

專利： 已獲得  申請中  無

技轉： 已技轉  洽談中  無

其他：（以200字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性，以500字為限）

雖然台灣毒品檢驗與世界同步，然而一般人以為十分精良、可靠的毒品檢驗，其實仍存在許多難題待解，因而造成司法審判或當事者之困擾。隨著時代進步，新的儀器與概念不斷精進，本研究針對2個K他命舊難題，提出新的解決方法，希望可以增加K他命毒品檢測能力。

4. 主要發現

本研究具有政策應用參考價值： 否  是，建議提供機關

（勾選「是」者，請列舉建議可提供施政參考之業務主管機關）

本研究具影響公共利益之重大發現： 否  是

說明：（以150字為限）