

國立臺灣大學理學院化學系

碩士論文

Department of Chemistry

College of Science

National Taiwan University

Master's Thesis



新興精神活性物質及其代謝物鑑定

Identification of New Psychoactive Substances
and Their Metabolites

孟慶璿

Ching-Hsuan Meng

指導教授：林志民 博士

Advisor: Jim Jr-Min Lin, Ph.D.

中華民國 113 年 6 月

June 2024





國立臺灣大學碩士學位論文

口試委員會審定書

NTU Master Thesis

Oral Defense Approval Form

新型精神活性物質及其代謝物鑑定

Identification of Novel Psychoactive Substances and Their Metabolites

本論文係孟慶璿君（學號 R09223158）在國立臺灣大學化學系完成之碩士學位論文，於民國 113 年 6 月 18 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The student Meng Ching Hsuan (student no. R09223158) enrolled in the Master Program of the Department of Chemistry, NTU has satisfactorily passed the oral defense on 2024/06/18 with the approval of all committee members as follows.

口試委員(Committee Members)：

林志民

(簽名 Signature)

(指導教授 Advisor)

李永健

余慈顏

陳珮珊

陳振中

系主任、所長

(簽章)

(Dept./Institute Chair's Signature and Seal)



謝誌

在 104 年離開校園，歷經師大附中實習、基隆服役、苑裡擔任高中化學老師、展抱山莊受訓、分發到調查局鑑識科學處後，於 109 年重拾學生身分進入返回母校化學系開始碩士班學業，當時興奮又期待的心情至今仍記憶猶新。研究所的四年並不容易，從上課到專題研究都是很大的挑戰，學習及研究的過程中遇到的困難不少，遭受的挫折也讓我一度失去繼續學業的信心。

如今能完成碩士班學業，我首先要感謝指導教授林志民老師及余慈顏老師的指導，在老師們不辭辛勞地教導下，原本細碎的研究成果逐漸組織成一個連通的研究題目，研究完整性在老師們的教導下大幅提升，終於到足以完成的程度。接著我要感謝調查局的周松霖助理及原分所的梁亦采，有你們的技術協助我才能取得完整的實驗數據，你們提供的結果是轉動整個研究進程的樞紐。感謝調查局顏堯德學長在研究方向的提點及經費上的支持，沒有學長的協助研究將難以為繼。謝謝原分所實驗室林妍秀、吳彥儒、羅冠傑三位同學在研究過程中給予各種幫忙，實驗室溫馨的氣氛讓我每週來到學校的這一天總是特別放鬆。感謝化學鑑識科的同仁及科長，謝謝你們在工作上的幫助，讓我能無後顧之憂地研究。

我還要感謝林金全老師的指導，我會永遠記得老師和藹與溫暖，老師對我們的付出我會銘記在心，以及 Sohidul Mondal 在研究上給我協助與指導，雖然沒能一起完成我們的研究，一起在實驗室埋首於儀器中的日子還是十分難忘。

最後，我要感謝我最親愛的老婆和我的爸爸媽媽，在挫折時給我加油打氣，在低潮時帶我出遊散心，在忙碌時陪我一同打拼，一路走來的各種點點滴滴，有你們的陪伴和支持，我才能渡過各種難關完成學業，再次走出校園。

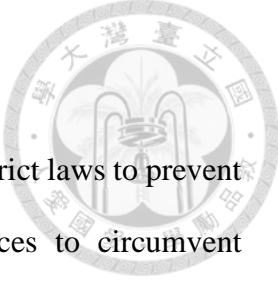


中文摘要

毒品犯罪是萬國公罪，多數國家都有嚴格的法律防制毒品犯罪。創造全新的新興精神活性物質以規避既有法規限制，已成新的毒品犯罪模式，確認新型精神活性物質結構，找到其生物體代謝物，進一步從代謝物資訊篩檢出濫用族群，再將新興精神活性物質列入法規規範是圍堵此犯罪的方法。本研究之研究對象為 3 種以氣相層析質譜法分析，質譜與現有已知毒品皆不相符之粉末證物，經以液相層析軌道阱質譜法確認分子式，並以核磁共振光譜法取得氫譜、碳譜、關聯性磁共振頻譜等圖譜確認完整分子結構，進而確認 3 項毒品分別為 1-(4-氟苄基)-4-甲基哌嗪、N-丙基-1,2-二苯乙胺、4-氟- α -吡咯烷基苯異己酮，皆為前所未見的新興精神活性物質。後續以斑馬魚代謝模型模擬新興精神物質在人體代謝的路徑，以浸泡斑馬魚於三種新興精神活性物質水溶液的方式，取得這些新興精神活性物質的代謝物，觀察代謝物參考強度比值隨採樣時間變化趨勢，以液相層析軌道阱質譜法的二次質譜解析代謝物可能結構。最後將斑馬魚與產生的代謝物溶於人體尿液檢品，並以毒品尿液篩檢之標準作業方法分析這些代謝物，模擬 3 種新興精神活性物質人體尿液檢品於毒品尿液篩檢完整過程，找出 3 種新興精神活性物質於實務上最適合用於毒品尿液篩檢的指標代謝物。

關鍵詞：新興毒品、毒品代謝物、核磁共振光譜法、氣相層析質譜法、液相層析軌道阱質譜法、斑馬魚。

Abstract



Drug crime is a global public offense, and most countries have strict laws to prevent drug-related offenses. The creation of new psychoactive substances to circumvent existing regulations has become a new pattern in drug crimes. Confirming the structures of these new psychoactive substances, identifying their biological metabolites, screening for abusers based on metabolites information, and subsequently incorporating these substances into regulatory frameworks are methods employed to counteract this criminal trend. The study involves three powder samples that don't match well known drugs in their mass spectrum. Through gas chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography-Orbitrap mass spectrometry, and nuclear magnetic resonance spectroscopy, the complete molecular structures of 1-[(4-fluorophenyl)methyl]-4-methylpiperazine, N-(1,2-diphenylethyl)propan-1-amine, 1-(4-fluorophenyl)-4-methyl-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one were determined, confirming them as new psychoactive substances which have never seen before. Subsequently, a zebrafish metabolism model was used to simulate the human metabolic behavior in response to the three novel psychoactive substances. Using this model, a variety of metabolites were generated, and the possible structures of these metabolites were analyzed. Following the standard operating procedures for drug urine screening, the metabolites were subjected to analysis to identify the most suitable indicative metabolites among the three new psychoactive substances for practical drug urine screening.

Keywords: new psychoactive substances, drugs' metabolites, nuclear resonance spectroscopy, gas chromatography mass spectrometry, liquid chromatography tandem orbitrap mass spectrometry, zebrafish.



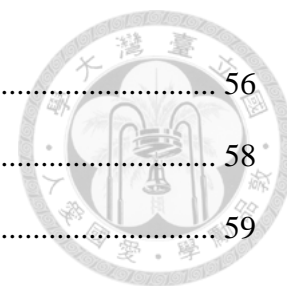
目次

國立臺灣大學博士學位論文口試委員會審定書	i
謝誌	ii
中文摘要	iii
Abstract.....	iv
目次	v
圖次	viii
表次	xi
第一章 介紹	1
1.1 毒品的發展.....	1
1.2 新興毒品類別概述.....	3
1.2.1 合成興奮劑類(synthetic stimulants).....	3
1.2.2 合成迷幻藥類(synthetic hallucinogens)	5
1.2.3 合成鎮定劑類(synthetic depressants)	7
1.3 毒品鑑定儀器原理及鑑定方法.....	8
1.3.1 氣相層析串聯質譜法(gas chromatography tandem mass spectrometry, GC-MS).....	9
1.3.2 液相層析串聯軌道阱質譜法(liquid chromatography tandem orbitrap mass spectrometry, LC- Orbitrap MS).....	10
1.3.3 核磁共振光譜法(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR).....	14
1.4 毒品代謝物.....	18
第二章 未知化合物結構確認	21
2.1 樣品來源.....	21
2.2 分析步驟.....	22



2.3 氣相層析質譜法.....	24
2.4 液相層析軌道阱質譜法.....	24
2.5 核磁共振光譜法分析條件.....	25
2.6 分析結果.....	27
2.6.1 氣相層析質譜比對結果.....	27
2.6.2 液相層析軌道阱質譜法分析結果.....	29
2.6.3 核磁共振光譜法分析結果.....	31
2.6.3.1 a-9 核磁共振光譜.....	31
2.6.3.2 a-10 核磁共振光譜.....	37
2.6.3.3 a-11 核磁共振光譜.....	44
第三章 新興精神活性物質代謝物研究.....	49
3.1 斑馬魚代謝模型.....	49
3.2 尋找 a-9、a-10、a-11 代謝物.....	49
3.2.1 實驗方法.....	49
3.2.1.1 實驗配置.....	49
3.2.1.2 樣品前處理.....	49
3.2.1.3 儀器設定.....	50
3.2.1.4 數據分析.....	50
3.2.2 a-9 代謝物.....	52
3.2.2.1 預測 a-9 可能代謝物.....	52
3.2.2.2 a-9 可能代謝物濃度與採樣時間關係.....	52
3.2.2.3 a-9 可能代謝物與正控制組比對.....	54
3.2.2.4 a-9 可能代謝物與負控制組比對.....	55
3.2.3 a-10 代謝物.....	56
3.2.3.1 預測 a-10 可能代謝物.....	56

3.2.3.2 a-10 可能代謝物與採樣時間關係	56
3.2.3.3 a-10 可能代謝物與正控制組比對	58
3.2.3.4 a-10 可能代謝物與負控制組比對	59
3.2.4 a-11 代謝物	60
3.2.4.1 預測 a-11 可能代謝物	60
3.2.4.2 a-11 可能代謝物隨採樣時間變化	60
3.2.4.3 a-11 可能代謝物與正控制組比對	62
3.2.4.4 a-11 可能代謝物與負控制組比對	62
3.3 a-9、a-10、a-11 代謝物結構分析	64
3.4 前處理對代謝物 RIR 影響	73
3.4.1 實驗方法	73
3.4.2 回溶溶劑與代謝物 RIR 關係	74
3.4.3 毒品尿液檢驗前處理對代謝物 RIR 影響	75
3.4.4 尿液基質對代謝物 RIR 影響	77
第四章 結論	79
參考資料	80
附圖	85
附表	91



圖次



圖 1 五種合成興奮劑類毒品結構式	4
圖 2 五種常見合成迷幻藥類毒品結構式	7
圖 3 四極柱分析儀示意圖	10
圖 4 ESI 原理示意圖	13
圖 5 Orbitrap Mass Spectrometry 示意圖	13
圖 6 Full MS、PRM 及 Full MS/dd-MS ² 工作程序示意圖	14
圖 7 磁場能階差示意圖	16
圖 8 電子遮蔽效應示意圖	16
圖 9 CYP2D6 催化 MDMA 及 甲基安非他命代謝反應	20
圖 10 (R)-Ketamine 及 (S)-Ketamine 代謝路徑	20
圖 11 樣品 a-9、a-10、a-11 樣品外觀照片	21
圖 12 未知物分析流程圖	23
圖 13 a-9 質譜比對結果	28
圖 14 a-10 質譜比對結果	28
圖 15 a-11 質譜比對結果	28
圖 16 a-9 二次質譜	30
圖 17 a-10 二次質譜	30
圖 18 a-11 二次質譜	30
圖 19 a-9 氫譜	31
圖 20 a-9 ¹³ C 譜	32
圖 21 a-9 ¹³ C DEPT 譜	32
圖 22 a-9 COSY 譜	33
圖 23 a-9 NOESY 譜	34



圖 24 a-9 HSQC 譜	35
圖 25 a-9 HMBC 譜	36
圖 26 a-10 氫譜	37
圖 27 a-10 ^{13}C 譜	38
圖 28 a-10 ^{13}C DEPT 譜	38
圖 29 a-10 COSY 譜	40
圖 30 a-10 NOESY 譜	41
圖 31 a-10 HSQC 譜	42
圖 32 a-10 HMBC 譜	43
圖 33 a-11 氫譜	44
圖 34 a-11 ^{13}C 譜	45
圖 35 a-11 ^{13}C DEPT 譜	45
圖 36 a-11 COSY 譜	46
圖 37 a-11 NOESY 譜	47
圖 38 a-11 HSQC 譜	48
圖 39 a-9 可能代謝物層析圖	53
圖 40 a-9 可能代謝物與採樣時間關係圖	53
圖 41 a-9 正控制組 a-9-m3-c+與實驗組 a-9-m3 RIR 採樣時間關係圖	54
圖 42 a-10 可能代謝物層析圖	57
圖 43 a-10 可能代謝物 RIR 與採樣時間關係圖	57
圖 44 a-10 正控制組訊號 RIR 與採樣時間關係圖	58
圖 45 a-11 可能代謝物層析圖	61
圖 46 a-11 可能代謝物 RIR 與採樣時間關係圖(1)	61
圖 47 a-11 可能代謝物 RIR 與採樣時間關係圖(2)	62
圖 48 a-11 正控制組 a-11-m2-c+、實驗組 a-11-m2 採樣時間關係圖	63

圖 49 PRM 模式以質譜取得子離子示意圖	65
圖 50 $C_7H_6F^+$ 子離子共振結構	65
圖 51 $C_{13}H_{10}^+$ 互變結構	70
圖 52 $C_{14}H_{13}O^+$ 脫水反應式	70
圖 53 方法六前處理後代謝物 RIR	76
圖 54 尿液基質對代謝物 r % 影響	77
圖 55 a-9 TIC	85
圖 56 a-9 質譜	85
圖 57 a-10 TIC	85
圖 58 a-10 質譜	85
圖 59 a-11 TIC	86
圖 60 a-11 質譜	86
圖 61 a-9 液相層析 TIC	86
圖 62 a-9 一次質譜	87
圖 63 a-10 液相層析 TIC	87
圖 64 a-10 一次質譜	87
圖 65 a-11 液相層析 TIC	88
圖 66 a-11 一次質譜	88
圖 67 a-9、a-10、a-11 精確分子量	88
圖 68 a-9 ^{19}F 譜	89
圖 69 a-11 ^{19}F 譜	89
圖 70 代謝物 RIR 積分示意圖	90

表次



表 1 各類新興毒品比較	8
表 2 Phase I 和 Phase II 代謝反應區分	20
表 3 三種新興精神活性物質資訊	22
表 4 GC-MS 分析參數.....	24
表 5 Orbitrap LC-MS 分析參數.....	25
表 6 NMR 分析參數及光譜參數.....	26
表 7 a-9 可能代謝物	52
表 8 a-9 可能代謝物迴歸線參數	53
表 21 a-10 可能代謝物	56
表 10 a-10 可能代謝物迴歸線參數	57
表 11 a-10 正控制組訊號迴歸參數及 t-test 結果	58
表 12 負控制組 a-10-m6-c-RIR 及 t-test 結果	59
表 13 a-11 可能代謝物	60
表 14 a-11 可能代謝物迴歸線參數	61
表 15 負控制組 a-11-m2-c- RIR 及 t-test 結果	63
表 16 Orbitrap LC-MS 分析參數.....	64
表 17 a-9-m1 子離子結構.....	67
表 18 a-9-m3 子離子結構.....	67
表 19 a-10-m2 子離子結構.....	69
表 20 a-10-m3、a-10-m4 子離子結構.....	69
表 21 a-10-m6 子離子結構.....	69
表 22 a-11-m2 子離子結構.....	72
表 23 a-11-m6 子離子結構.....	72

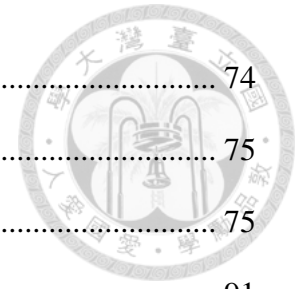
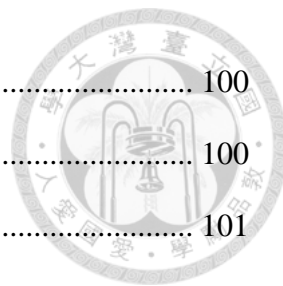


表 24 七種前處理方法	74
表 25 實驗組與對照組 RIR 比值	75
表 26 前處理後代謝物回收率	75
表 27 a-9、a-10、a-11 單一同位素質量與分子式	91
表 28 a-9 HMBC 交叉峰訊號列表	91
表 29 a-10 氫譜訊號列表	91
表 30 a-10 ¹³ C 譜訊號列表	92
表 31 a-10 COSY 交叉峰訊號列表	92
表 32 a-10 HSQC 交叉峰訊號列表	92
表 33 a-10 NOESY 交叉峰訊號列表	93
表 34 a-10 HMBC 交叉峰訊號列表	93
表 35 a-11 氫譜訊號列表	94
表 36 a-11 ¹³ C 譜訊號列表	94
表 37 a-11 NOESY 交叉峰訊號列表	94
表 38 a-11 HSQC 交叉峰訊號列表	95
表 39 a-9 可能代謝物 RIR	95
表 40 a-9 正控制組 RIR	95
表 41 a-10 可能代謝物 RIR	96
表 42 a-10 正控制組訊號 RIR	96
表 43 a-11 可能代謝物 RIR	97
表 44 a-11 正控制組 RIR	97
表 45 a-9-m1 子離子列表	97
表 46 a-9-m3 子離子列表	98
表 47 a-10-m2 子離子列表	99
表 48 a-10-m3 子離子列表	99

表 49 a-10-m4 子離子列表.....	100
表 50 a-10-m6 子離子列表.....	100
表 51 a-11-m2 子離子列表.....	101
表 52 a-11-m6 子離子列表.....	102
表 53 代謝物經前處理後的 RIR.....	103
表 54 尿液基質對代謝物 r % 影響	103






第一章 介紹

1.1 毒品的發展

我們將具有危害性及成癮性且非基於醫療目的而使用藥物稱為毒品，人類自文明誕生以前就有使用藥物的習慣，藉由對古代器皿上的殘留物及古人殘留毛髮的微量成分分析，發現這種習慣最早可追溯到史前時代，且地域上橫跨全球[1]。最初的藥物源自於食用具有特殊療效的植物或礦物，人類使用藥物以治癒疾病、舒緩疼痛，但隨著能帶來愉快體驗且具有成癮性的藥物被發現，藥物的濫用開始成為人類社會潛在的危害因子。

不論在東方還是西方，早在數千年前就有大麻及罌粟這兩種植物被用做藥物的歷史紀錄[2, 3]，大麻及罌粟皆因含有能影響中樞神經系統的精神活性物質，而被用做止痛藥，這兩種植物不單其藥用特性為古籍所載，其對人體的危害也有所紀錄。西元前 3 世紀古希臘的醫生 Erasistratus 就曾在與解剖學家 Herophilos 的書信中提及罌粟的致命性與危害性而反對將其作為藥物使用[4]；在東方，成書於東漢時期的《神農本草經》以「多食，令人見鬼狂走」描述過量使用大麻而產生幻覺的病徵[5]。我們很難界定人們意識到藥物危害性的時間點，但可以確定人類並非近幾個世紀才認識到濫用藥物造成的危害。

相較之下人們發覺藥物成癮性問題的時間點就比較晚，古代對成癮性描述最多的莫過於酒精依賴，歷史上許多文人皆不吝於在詩詞中表達對酒類的喜好。陶淵明在《止酒》一詩中提到自己「平生不止酒，止酒情無喜。暮止不安寢，晨止不能起」，道出不喝酒就會心煩難眠，喝了酒會久睡不起的困境，想戒酒又難以自拔的矛盾心態[6]。以現代醫學角度來看這些行為已屬物質依賴(substance dependence)的典型症狀[7]，但在古代人們認為成癮只是個人對喜好的執著，甚至誤解這種行為是性格上的率真與浪漫。成癮行為研究的濫觴始於 19 世紀初，美國醫生兼政治家 Benjamin Rush 對酗酒者長期的行為觀察，他發現患者會超乎常理地



將飲酒視為生活中所有行為的第一目標，進而失去對自身行為的控制，Benjamin Rush 首度將成癮行為認定為一種心理疾病而非自主意識的選擇[8]。然而，受限於當時醫學主流觀念對人體自主意識及精神思想的理解，Benjamin Rush 認為成癮性是一種意志受損導致的精神疾病，與當今對成癮性的理解仍有差異[9]，直到 1875 年精神科醫師 Edward Levinstein 首度對嗎啡成癮者進行科學性的研究，發現成癮者對嗎啡藥物耐受性及戒斷症狀，並證實藥物施用與成癮性的直接關聯[10]。在十九世紀末到二十世紀中這段時間，許多科學家著手於治療藥物成癮的研究，並期許能像找到對抗白喉桿菌的疫苗一樣找到對抗藥物成癮的方法，但成效並不明顯[11]，毒品成癮治療到今天都還是個需要深入研究的課題。

隨著有機化學及製藥技術的進步，毒品種類及數量也跟著快速成長，如今高度氾濫的毒品諸如甲基安非他命(N-methylamphetamine)、苯甲醯乙胺(卡西酮, β -keto-amphetamine)、3,4-亞甲二氧甲基苯丙胺(3,4-methylenedioxyphenyl-2-propanone, MDMA)皆發明於十九世紀末至二十世紀初，毒品多樣化的發展促使各國建立起相關嚴格法令限制毒品的製造與使用[11-13]，並於 1961 年締結《麻醉品單一公約》[14]，國際公約的簽定為各國在毒品防制政策及毒品種類規範建立了一致的基礎，此時管制的毒品多為罌粟、嗎啡、古柯鹼及海洛因等傳統毒品。隨著各國對毒品管制力度加強，為了規避生產毒品帶來的法律責任，同時滿足成癮者對毒品的需求，毒品生產者會對既有的毒品分子結構進行官能基的修飾，創造出新的化合物，使其與既有毒品藥性相近，但又不會違反法規，這類經過分子結構上刻意修飾的新興精神活性物質又被稱為「狡詐家藥物」(designer drugs) [15, 16]。施用這類毒品存在極高的風險，修飾官能基的毒品可能會產生預期外的藥效，例如「對甲氧基甲基苯丙胺(PMMA)」為甲基苯丙胺(甲基安非他命)的延伸物，然而在苯環上添加甲氧基使 PMMA 分子進入腦部的速度比甲基苯丙胺慢，導致初始藥效較慢，施用者為達到相同藥物體驗的快感容易過量施用並造成藥物累積而喪命[17]，據統計臺灣在 2020 年就共有 93 人因服用過量 PMMA 致死。

得益於二十一世初網際網路的高速發展，毒品使用者透過網路討論新興毒品使用心得與銷售的資訊[12]，並藉由匿名暗網秘密地進行毒品交易[18]，新興毒品爆發式的流行也發生在這個階段，2015 年歐洲地區發現的新興毒品有 400 多種[19]，到了 2018 年這個數字迅速攀升到 892 種[20]。創造可以規避法律制裁的全新新興精神活性物質儼然成為一種全新的毒品犯罪模式，為防止這種犯罪，從辨識新興精神活性物質，到分析新興精神活性物質的代謝物，進而從代謝物資訊篩選出新興精神活性物質濫用族群，最終驗證毒品危害性並將毒品列入管制，是圍堵此種新型犯罪模式的唯一方法。

1.2 新興毒品類別概述

相較於海洛因、嗎啡、大麻等發明或發現超過一個世紀且長久氾濫的統毒品而言，新興毒品(new psychoactive substances, NPS)是指近期開始興起的毒品，這些毒品有些早在幾十年前就已經被發明，卻在近期才開始氾濫，有些則是為了規避既有毒品法規限制而被設計出的新興精神活性物質，還有一些是合法新發明的藥品，卻因某些特性而被當作娛樂藥物濫用[21]。不同 NPS 的分子結構、作用機制及使用後的造成的生理反應有很大的差異，一般根據作用機制(mechanism of action)及施用後的藥效，可將新興毒品分成三大類，分別為：合成興奮劑類(synthetic stimulants)，合成大麻類(synthetic cannabinoids)，合成迷幻藥類(synthetic hallucinogens)及合成鎮定劑類(synthetic depressants)[20]。

1.2.1 合成興奮劑類(synthetic stimulants)

合成興奮劑類是具有增強情緒刺激及提升快感藥效毒品的統稱，此類毒品根據分子主結構差異，可分再分為卡西酮類(cathinone)，胺基茛滿類(aminoindanes)，色胺類(tryptamines)，哌嗪類(piperazines)，苯乙胺類(phenylethylamines)五種次分類[20]，五種合成興奮劑類毒品之結構式如圖 1。

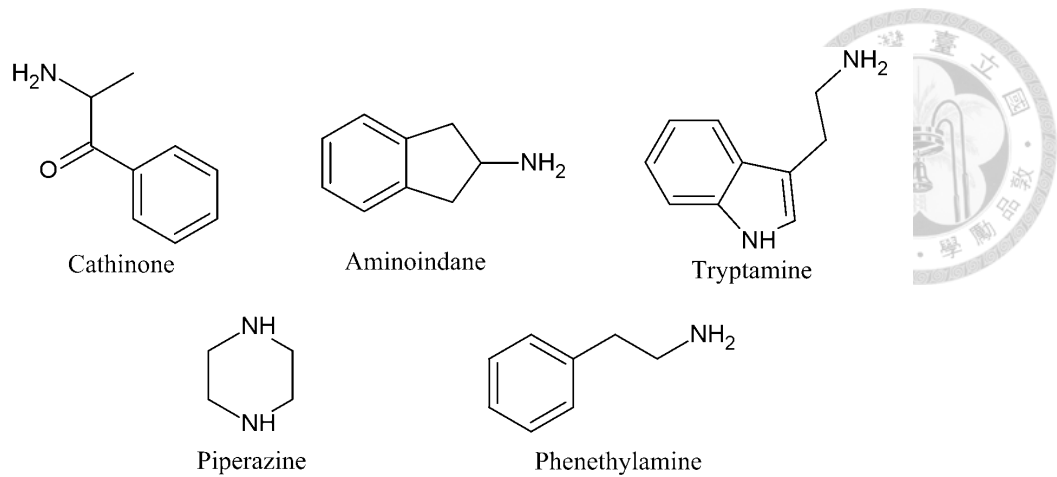


圖 1 五種合成興奮劑類毒品結構式

不同的合成興奮劑類毒品有作用機制上的差異，有些類別的作用機制至今仍不明朗[22]，但共通點是合成興奮劑類毒品皆會提升大腦內多巴胺、血清素、去甲腎上腺素等神經傳導物質濃度以達到刺激效果。以近年新興毒品中濫用程度最為廣泛的卡西酮及苯乙胺類[23]為例，在施用此類毒品後，毒品會抑制神經細胞軸突上的神經遞質轉運體(neurotransmitter transporter)，導致軸突釋放的神經傳導物質在突觸間隙中累積且無法被神經細胞回收，突觸間隙累積的高濃度神經傳導物質會使樹突上的神經傳導物質受體受到高於正常狀態的刺激，進而影響施用者的心理狀態，達到興奮的效果[24]。

卡西酮及苯乙胺類毒品主要針對軸突上的多巴胺轉運體(dopamine transporter, DAT)、血清素轉運體(serotonin transporter, SERT)、去甲腎上腺素轉運體(norepinephrine transporter, NET)進行抑制，毒品分子上官能基的變化，會影響毒品對三種受體的抑制力。譬如在卡西酮的苯環上添加氯、溴等鹵素官能基可提高分子疏水性，將卡西酮的胺基置換成吡咯烷(pyrrolidine)基也可以達到相似的效果，兩種改變皆會使分子更容易通過血腦屏障而加強藥效，但增加鹵素官能基會使分子對 DAT 的抑制效力下降並提升對 SERT 的抑制效力，因而改變施用體驗[25]。本研究發現的新興毒品 1-(4-氟苄基)-4-甲基哌嗪屬於哌嗪類合成興奮劑，4-氟- α -吡咯烷基苯異己酮屬於卡西酮類合成興奮劑。



1.2.2 合成迷幻藥類(synthetic hallucinogens)

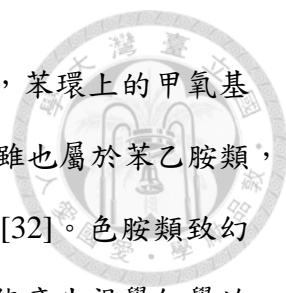
合成迷幻藥類泛指能改變認知、精神狀態、影響感官產生幻覺的藥物類別，依據藥理作用、感官體驗及藥物受體的差異，可分成合成大麻類(synthetic cannabinoids)、致幻劑(hallucinogen)及解離劑(dissociative)三種次分類。

合成大麻是一系列服用後有與吸食大麻相似藥效的藥品。根據歐洲毒品及毒品成癮監測中心(European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA)於 2022 的報告指出[26]，在全歐洲約有 7.7%的成年人口有吸食大麻之習慣，27.3%有吸食大麻經驗，大麻無庸置疑是當今濫用範圍最廣的毒品。 Δ 9-四氫大麻酚(Δ 9-tetrahydrocannabin, THC)是大麻內的主要精神活性物質，是刺激大腦產生欣快感的主成分，藉由吸食涉入體內的 THC 會代替人體自然生成的內源大麻素(endocannabinoid)，與神經細胞突觸上的大麻素 1 型受體(cannabinoid receptor 1, CB1)結合，干擾人體內源大麻素系統，並透過複雜且尚未確認的作用機制刺激多巴胺神經系統，影響施用者情緒、記憶等感官[27]。

為了在多數國家對大麻嚴格的控管的環境下，滿足大麻廣泛的施用需求，從 2000 年開始，多種以模仿 THC 分子結構，且同樣能和 CB1 結合的化合物大量被設計出，這類化合物統稱為合成大麻。合成大麻種類眾多，當中以 JWH-018、AB-FUBINACA、HU-210 最具代表性[28]。我國近年因大麻氾濫，供應量足，因此作為大麻替代品的合成大麻類毒品流行程度不如歐洲地區，依食藥署統計，2023 年合成大麻緝獲總案件數及重量皆不到查緝總量之千分之一。

致幻劑(hallucinogen)及解離劑(dissociative)兩者皆有影響思想、知覺和情緒的效果，但作用機制有差別[29]，致幻劑主要作用機制為活化血清素受體 5-HT_{2A}，5-HT_{2A} 受體與學習、記憶、幻覺、空間認知及某些精神疾病有關[30]，某些致幻劑同時具有合成興奮劑及合成鎮定劑類功效。依分子結構，致幻劑可再分為色胺類、苯乙胺類及麥角鹼胺類(lysergamides)三種類別。

苯乙胺類致幻劑為一系列以苯乙胺為原型的衍伸物，當中以 2C-H(2,5-



dimethoxyphenethylamines)為代表，2C-H 分子主結構為苯乙胺，苯環上的甲氧基大幅提升 2C-H 的致幻效力[31]，結構與之相似安非他命類毒品雖也屬於苯乙胺類，但其施用後興奮劑之藥效大於迷幻效果，一般歸納於興奮劑類[32]。色胺類致幻劑則以 5-MeO-AMT(5-methoxy- α -methyltryptamine)為代表，因能產生視覺幻覺效果，同時具有興奮劑類毒品提升感官感受功效而流行[33]。三種類型致幻劑中較為特別的是麥角鹼胺類，麥角鹼胺類為麥角菌(*Claviceps purpurea*)產生之麥角酸的衍伸物，當中以 LSD(lysergic acid diethylamide)最為常見，其藥效極強，成年人服用 75-150 微克即可達到致幻效果[34]。麥角菌會感染黑麥使黑麥殘留具致幻效果的麥角酸，16 世紀時阿爾薩斯(Alsace)曾發生大量居民長時間跳舞無法停止的「舞蹈瘟疫」，當時人們認為是惡魔作祟，如今推斷居民誤食受麥角菌感染之黑麥製成的麵包而造成集體中毒的可能性較大[35]。

解離劑依結構可分為芳香基環己胺(arylcylohexylamine)和二苯基乙胺(diarylethylamine)兩類，兩者作用機制類似，皆會抑制 N-甲基-D-天門冬胺酸受體(N-methyl-D-aspartate receptor)，達到解離型麻醉[36]。最具代表性的芳香基環己胺類解離劑為愷他命(ketamine)，愷他命是少數能同時達到麻醉、止痛及短期喪失記憶的麻醉藥，麻醉時不會干擾患者呼吸，是當今常用的麻醉藥，然而其迷幻劑類藥物影響心智的副作用被有心人士用作娛樂用藥[37]，愷他命在臺灣嚴重氾濫，近十年每年都有上噸的查緝量。二苯基乙胺(diarylethylamine)類則以勒非他命(lefetamine)為代表，勒非他命原先設計目的為代替鴉片的止痛藥，但使用後發現止痛效果不如鴉片，卻如同鴉片會在施用後產生戒斷症狀，同時又有迷幻藥影響心智的副作用，因此臨床上已很少被使用[38]，本研究新發現的新興毒品 N-丙基-1,2-二苯乙胺屬於此類。

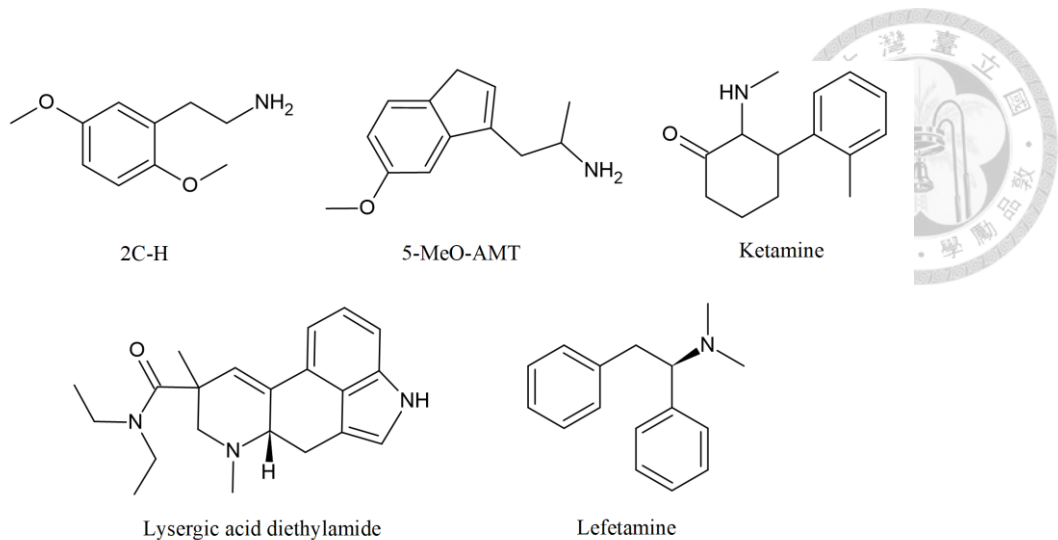


圖 2 五種常見合成迷幻藥類毒品結構式

1.2.3 合成鎮定劑類(synthetic depressants)

鎮定劑會抑制中樞神經活動、減少刺激，達到身心放鬆及減緩疼痛的藥效，傳統毒品如海洛因、嗎啡皆屬於鎮定劑[39]，合成鎮定劑根據作用機制及分子結構可分為苯二氮平(benzodiazepines)和合成鴉片(synthetic opioids)兩種類型。苯二氮平類藥物會和 γ -胺基丁酸 A 型受體(GABA_A)結合，提升 GABA_A對 γ -胺基丁酸的親和力，造成抑制神經元活動的結果，達到抗焦慮、肌肉鬆弛等鎮定藥效[40]。苯二氮平類藥物臨床上常做安眠藥使用，常見的代表有氟硝西洋(flunitrazepam, FM2)及硝西洋(nitrazepam)，此類藥物於上世紀 60 年代問世後，因良好藥性及安全性而取代巴比妥類藥物在鎮定劑類藥物的地位。[41]

合成鴉片類藥物模仿嗎啡在人體的作用機制，是能與鴉片受體結合之藥物的統稱，以常見醫用麻醉劑芬太尼(fentanyl)及戒除海洛因之藥品美沙酮(methadone)為代表，具有緩解疼痛的藥效[42]。有些合成鴉片類藥品具有極強的藥效，例如卡芬太尼(carfentanil)的藥效可達到嗎啡 1000 倍以上，在 2002 年莫斯科劇院人質危機中，俄羅斯軍警將霧化之卡芬太尼注入劇院演奏廳，麻醉恐怖分子後進行攻擊，卻因藥效控制失當造成上百名人質死亡[43]。合成鴉片類藥物的氾濫為施用



者帶來很大的風險，強力的藥效會讓施用者在輕易地使用高於致死劑量的毒品，據統計，美國在 2020 年因施用毒品致死的人中，有 56,516 人死因與合成鴉片有關 [44]。

表 1 各類新興毒品比較

類別	次分類	主要作用受體	主要藥效	代表性毒品	
合成興奮劑類	卡西酮類	多巴胺轉運體 血清素轉運體 去甲腎上腺素轉運體	刺激情緒 引起興奮 增加快感	4-甲基甲基卡西酮	
	胺基茛菪類			5-IAI	
	色胺類			α -甲基色胺	
	哌嗪類			苜基哌嗪	
	苯乙胺類			MDMA	
合成迷幻藥類	合成大麻類		產生幻覺 干擾認知 影響記憶	JWH-018	
	致幻劑	色胺類		二甲基色胺	
		苯乙胺類		2C-B	
		麥角醯胺類		LSD	
	解離劑	芳香基環己胺		N-甲基-D-天門冬胺酸受體	愷他命
		二苯基乙胺			勒非他命
合成鎮定劑類	苯二氮平類	γ -氨基丁酸受體	止痛 麻醉	氟硝西洋	
	合成鴉片類	鴉片受體		芬太尼	

1.3 毒品鑑定儀器原理及鑑定方法

在藥物鑑定領域，質譜法(mass spectrometry, MS)是當今最具區分能力的分析技術，質譜法透過離子的質荷比(mass-to-charge ratio, m/z) 確認分子量以判斷藥物種類，靈敏度最高能達到 aM(10^{-18} M)，可分析微量成分[45]，是當今法醫藥物分析的黃金標準[46]。以質譜法進行分析，會經過分析物分離、分子離子化及質量分析三個階段，分離階段可透過氣相層析(gas chromatography, GC)、液相層析(liquid chromatography, LC)、毛細管電泳(capillary electrophoresis, CE)完成，GC 可分析分子種類較 LC 少，但具有操作簡便分析速度較快之優勢，CE 在蛋白質及生

物分子領域有很大優勢。離子化方法有許多種，較常用於毒品鑑定的方法電子撞擊游離 (electron ionization, EI)、大氣化學游離 (atmospheric pressure chemical ionization, API)、電噴灑游離 (electrospray ionization, ESI)，EI 屬於硬游離，使用電子撞擊受測分子使分子離子化，游離能量通常為 70 eV[47]，分子在電擊撞擊下碎裂成離子碎片，這些離子碎片進入質量分析階段被偵測到，構成屬於受測分子獨特的質譜。ESI、APCI 屬於軟游離，離子化過程中可避免分子碎裂保留分子原貌，對分析蛋白質及確定分析物分子量有很大的幫助[48]。

1.3.1 氣相層析串聯質譜法 (gas chromatography tandem mass spectrometry, GC-MS)

氣相層析法發明於 1952 年，A. T. James 等人將混合矽油的矽砂土作為靜相填充至 5 英尺長，直徑 4mm 的玻璃管內，將氮氣作為動相，以不同脂肪酸在靜相與動相中分配差異，成功分離脂肪酸混合物，分離理論板數達到 700-1200[49]。此優異的分離效果讓氣相層析法受到重視並快速發展，現代氣相層析使用的管柱為毛細管柱 (fused silica capillary columns)，管柱長度介於 10-100m，內徑 0.1-0.8mm 寬，靜相膜厚 0.1-1 μ m，理論板數可達 10^4 - 10^5 [50]，不論極性或非極性的分析物，都能找到合適的管柱靜相成分搭配操作時的溫度變化，使分離效果最佳化，氣相層析法如今已是化學、生物學、醫學等領域普遍使用的分離方法[51]。

本研究搭配 GC-MS 離子源為 EI，質量分析儀為四極柱分析儀 (quadrupole mass analyzer)，四極柱分析儀因低成本、體積小、耐用性和可靠性而成為泛用的質量分析儀，四極柱由四個平行圓柱組成如圖 3，圓柱會施加直流電位及交流電位，藉調整直流及交流電位強度組合，篩選特定 m/z 之離子通過四極柱，進入電子倍增管 (electron multiplier horn) 產生質譜訊號。由於工作原理，四極柱質譜儀需要穩定的離子源，因此它跟氣相層析儀是很好的組合[52]。

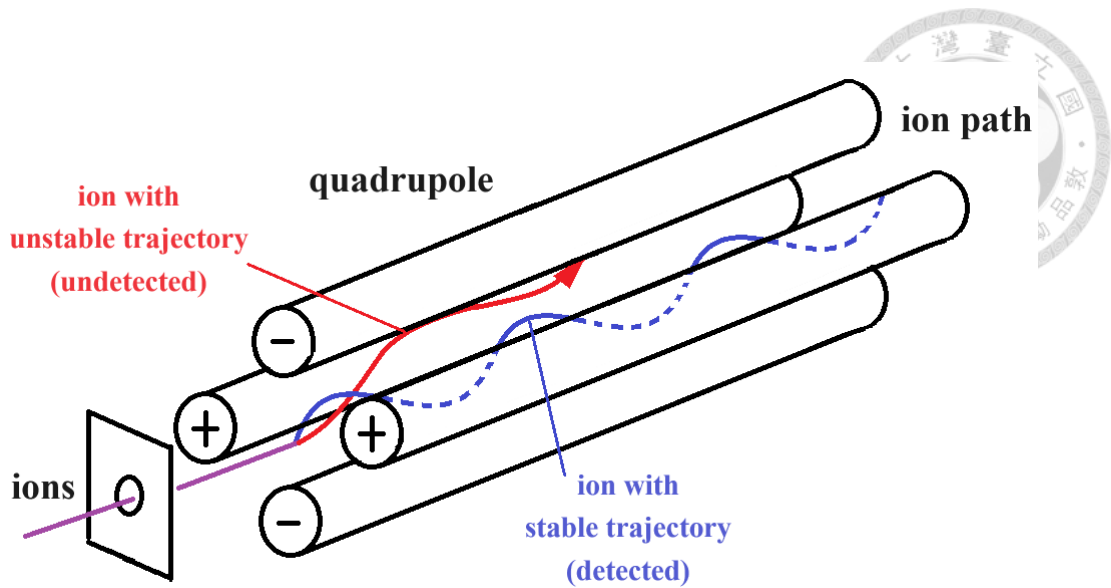


圖 3 四極柱分析儀示意圖

1.3.2 液相層析串聯軌道阱質譜法(liquid chromatography tandem orbitrap mass spectrometry, LC- Orbitrap MS)

液相層析基於混合物中不同分子在液體動相與固體靜相間的分配差異來達到分離之目的，層析管柱是液相層析的核心，當今使用的液相層析管柱和傳統填充管柱相比，有內徑小(3~4.6mm)、填充物粒徑小(3~10 μ m)、管長短(10~20cm)等特點，以達到快速而有效的分離，較小的內徑與緊緻的靜相填充物使液體流過管柱的壓降極大，因此需裝備加壓幫浦才能維持管柱內動相流速。

本研究 LC- Orbitrap MS 使用的離子源為 ESI，如圖 4，來自 LC 的液體從 ESI 的噴霧器(nebulizer)噴出含分析物之液滴，噴霧器與質量分析儀間施加電位差使液滴帶電荷，液滴從噴霧器噴出到進入質量分析儀過程中，溶劑逐漸乾燥使液滴體積縮小電荷密度提高，當電荷密度提高到電荷間的庫倫靜電力排斥力大於維持液滴形狀的分子間作用力的臨界點時，液滴會發生庫倫爆炸(coulomb explosion)，變成小液滴，經多次溶劑蒸發、庫倫爆炸反覆循環，最後僅存分析物帶電離子進入到質量分析儀。[53]

Orbitrap MS 由四極柱質量分析儀、C-trap(curved linear trap)、HCD 碰撞室

(higher energy collisional dissociation collision cell)、軌道阱質量分析儀(orbitrap mass analyzer)四個主要部位及數個次要部位組成。

四極柱質量分析儀功能與工作原理如 1.3.1 節所述，差別是 Orbitrap MS 內四極為雙曲線形，可以更好地控制離子雲形狀，提升離子輸送至 C-trap 的效率。

C-trap 是一個組彎曲形電極構成的腔體，腔體內含有氮氣，離子導入 C-trap 後，C-trap 會建立起交流電場阱使離子拘束於腔體內，並利用腔體內的氮氣與離子反覆碰撞的過程使離子逐漸失去動能而靜止，離子靜止後根據分析模式進入 HCD 碰撞室或軌道阱質量分析儀。

HCD 碰撞室由數個可施加電場金屬管組成，室內與有氮氣分子，HCD 碰撞室加速進入到室內的離子，同時施加電壓，使離子與氮氣分子碰撞後破碎成子離子(product ion)，碰撞程序完畢後再將子離子傳輸回 C-trap。

軌道阱質量分析儀是整組儀器核心部分，由一紡錘形中心電極及一對左右對稱的鐘形外殼電極包覆在外，組成能讓離子環繞的空間，離子從 C-trap 進入到質量分析儀，受到中心電極庫侖力吸引而環繞中心電極作圓周運動，同時沿著軸心左右來回震盪，如圖 5 所示，震盪時離子會對左右兩側外殼電極形成鏡像電流，離子震盪頻率與 m/z 關係式如式(1)，分析鏡像電流頻率即可得知離子 m/z 。大量強度與 m/z 不同的離子在分析儀內震盪產生複雜的鏡像電流，類比電流轉換成數訊號，再以傅立葉轉換解析組成電流的頻率及震幅，最後以式(1)換算成組成離子 m/z 得到完整質譜。[54]

$$\omega = \sqrt{\frac{k}{m}} \frac{z}{z} \quad (1)$$

(ω : 頻率, k : 儀器常數, m : 離子質量, z : 離子電荷)

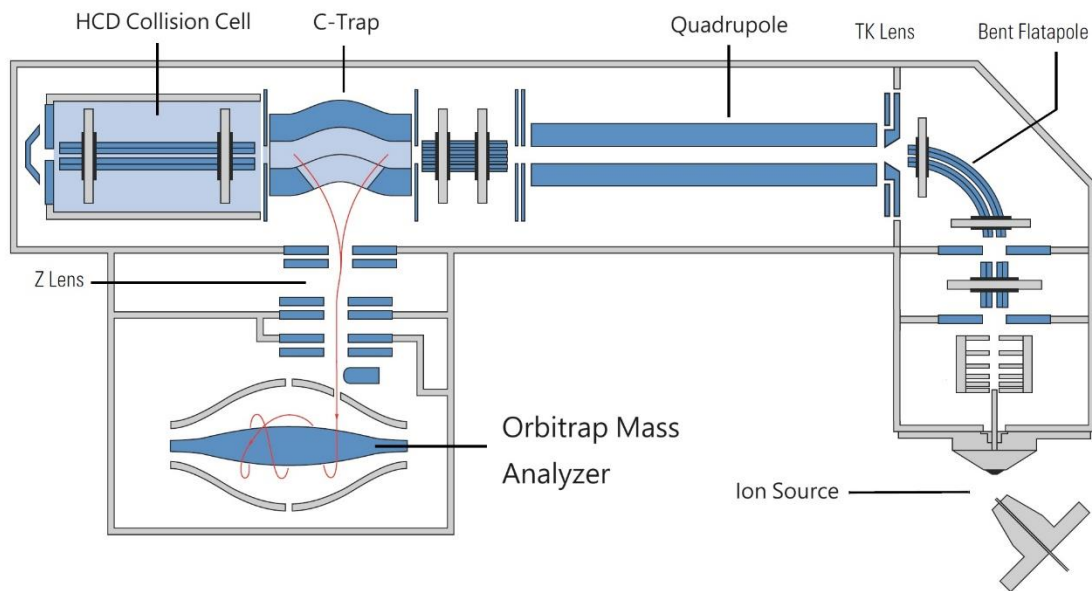
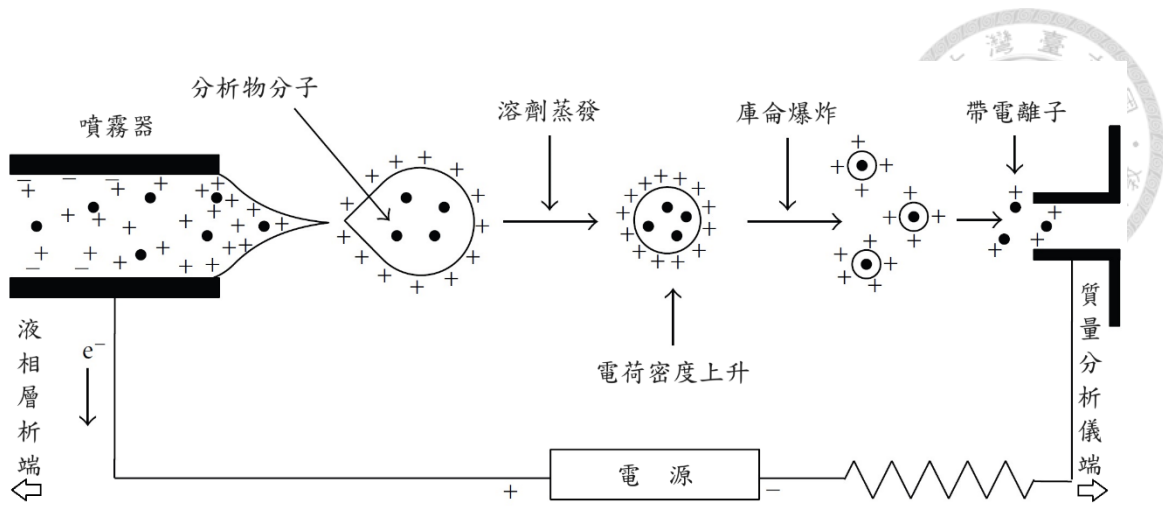
Orbitrap MS 能同步獲得大量離子訊號，在獲取高解析度的 m/z 同時又能維持高靈敏度，有助於分析微量分析物的單一同位素質量，並藉以推知其分子式，HCD 碰撞室能將母離子衍伸成大量子離子，獲取分子更多結構上的細節資訊。基

於上述幾種功能，Orbitrap MS 有許多種分析模式，以下就本研究使用到的三種分析模式進行介紹：

全掃描 (Full MS) 模式：此模式下四極柱不啟動篩選功能，所有離子導入 C-trap 減速後送入軌道阱質量分析儀分析質荷比。此模式不會排除任何離子，但只能獲得母離子的訊號，定性能力稍嫌不足，且受限於 C-trap 容納離子數量的上限，目標分析物離子可能會被其餘離子干擾導致靈敏度降低，此模式適合定量實驗。

平行反應監測 (Parallel Reaction Monitoring, PRM) 模式：此模式下必須先在 inclusion list 內設定目標離子，實驗時四極柱會排除 inclusion list 外的其他離子僅讓目標離子通過 C-trap 並進入 HCD 碰撞室，在 HCD 碰撞室內目標離子與碰撞分子碰撞，破碎成許多子離子，子離子輸送回 C-trap 並減速，蒐集一段時間後，C-trap 再將子離子送入 Orbitrap Mass Analyzer，若有多個目標離子則會依序篩選、碰撞、蒐集並分析這些離子，不能同步進行，過多的目標離子會壓縮蒐集時間，降低離子訊號。此模式可獲得目標離子的二次質譜，適合定性分析獲得結構資訊，不適合定量。

全掃描/數據依賴二次質譜(Full MS/data-dependent-MS², dd-MS²)模式：此模式下每個工作週期會先進行 Full MS 模式，再依照事先設定條件(例如：訊號最強的母離子或 inclusion list 設定目標離子)與 Full MS 模式所獲得的母離子質譜數據決定要將哪些母離子通入 HCD 碰撞室取得二次質譜數據，故稱謂數據依賴二次質譜。當母離子質譜偵測到目標離子才會針對目標離子啟動二次質譜分析(如圖 6)。此模式彌補 Full MS 模式下無法取得二次質譜定性能力不足的困境，適合做蛋白質及多肽結構分析，本研究因代謝物存在多種同分異構物，選用此法能在使用 Full MS 質譜進行定量分析時，同步以二次質譜區別同分異構物。[55]



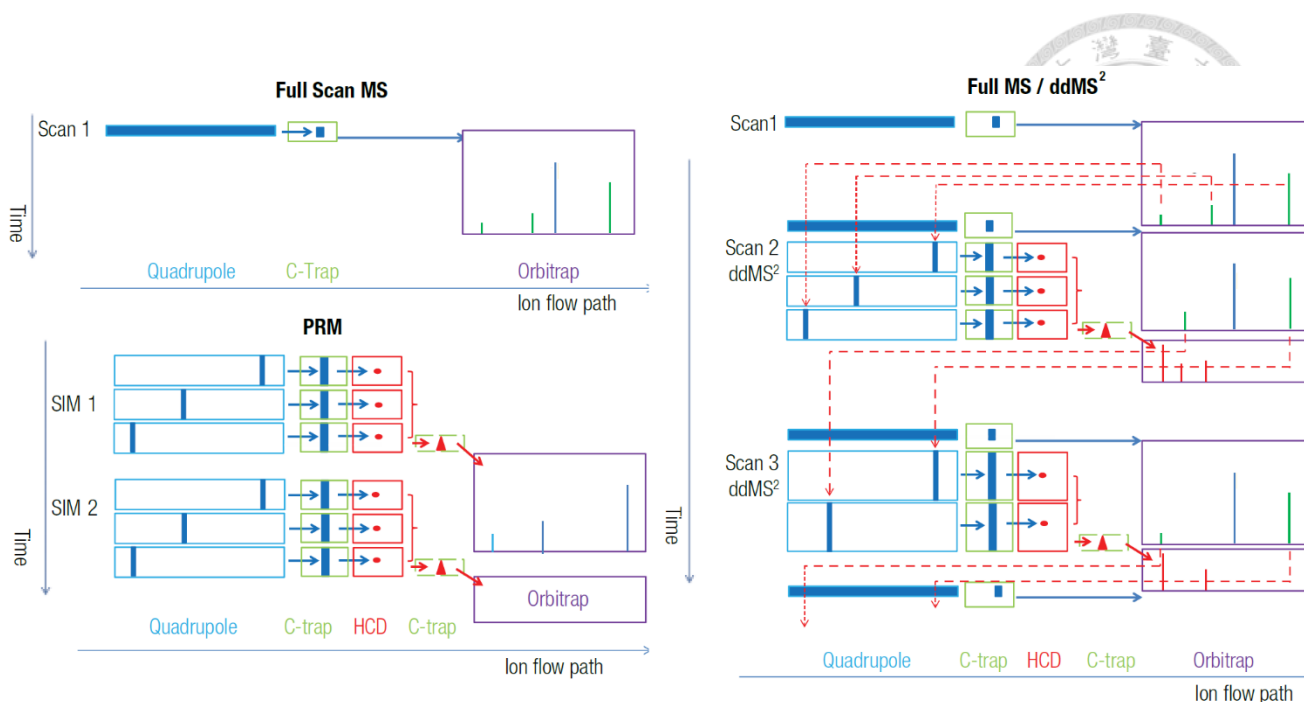


圖 6 Full MS、PRM 及 Full MS/dd-MS² 工作程序示意圖[55]

1.3.3 核磁共振光譜法(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)

核磁共振光譜法利用原子核磁性差異分析分子結構，經過近 70 年的發展，此技術已日趨成熟[56]，不論在小型分子定性辨識、大型生物分子的結構解析都是強而有力的分析工具，因而廣泛應用於工業生產、生醫製藥、再生能源、法醫鑑識等各個領域[57]，本研究使用 NMR 確認分子結構。

NMR 基本原理與原子核的自旋(Spin)有關，在量子力學中自旋屬於原子核的基本性質，以自旋量子數(Spin quantum number, I)描述之，不同原子核的 I 有所差異， I 可以是整數或半整數。因自旋產生的角動量可以用自旋磁量子數(Spin magnetic quantum number, m_I)加以描述， I 與 m_I 的值關係如式(2)。

$$m_I = I, I - 1, I - 2, \dots, -I \quad (2)$$

例如 ^1H 的自旋量子數 $I = \frac{1}{2}$ ，則自旋磁量子數 $m_I = -\frac{1}{2}$ 或 $+\frac{1}{2}$ 。對根據古典物理，封閉電流會產生磁矩(Magnetic moment)，在量子力學中，帶電粒子也會因其自旋產生磁矩，磁矩大小與描述角動量的 m_I 相關，關係如式(3)



$$\mu = m_I \gamma \hbar \quad \text{--- (3)}$$

(μ ：磁矩， γ ：磁旋比， \hbar ：約化普朗克長數)

將磁矩至於磁場中，磁矩在磁場中的位能為：

$$U = -\mu \cdot B_0 \quad \text{--- (4)}$$

(U ：位能， B_0 ：磁場)

將式(3)代入式(4)，得原子核在磁場中的位能：

$$U = m_I \gamma \hbar B_0 \quad \text{--- (5)}$$

以 ^1H 原子核為例，根據式(5)及式(2)，在磁場 B_0 中 ^1H 原子核的位能可以是：

$$U_+ = -\frac{1}{2} \gamma \hbar B_0 \quad \text{或} \quad U_- = \frac{1}{2} \gamma \hbar B_0 \quad \text{--- (6)}$$

因此，在磁場中 ^1H 原子核會分裂成兩個能階，能階的能量差為：

$$\Delta E = U_- - U_+ = \gamma \hbar B_0 \quad \text{--- (7)}$$

根據式(7)，能量差隨磁場強度增加而增大(如圖 7)，當原子核吸收電磁波能量與能量差相等，便可在兩個能階發生躍遷，此時稱原子核與該電磁波發生共振 (Resonance)。

$$\Delta E = h\nu_0 = \gamma \hbar B_0$$

$$\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi \quad \text{--- (8)}$$

(ν_0 ：電磁波頻率)

以 ^1H 原子核為例， ^1H 之 $\gamma = 2.675 \times 10^8 (\text{rad} \cdot \text{T}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$ ，若外加磁場 $B_0 = 7.05\text{T}$ ，根據式(8)發生共振電磁波頻率為 $\nu_0 = 3.001 \times 10^8 (\text{s}^{-1})$ 。

原子核外電子運動時會產生磁場 σB_0 ， σ 稱為遮蔽常數， σB_0 會影響原子核真正感應到的有效磁場 B_{eff} (如圖 8)，進而影響原子核的共振頻率，此頻率差稱為化學位移 (Chemical shift)，由於不同 ^1H 原子核所在的化學環境不同，遮蔽常數也會有所差異，藉化學位移變化便能得知氫原子的結構資訊。位移量與磁場強度呈正比，為了使不同磁場強度下得到的化學位移可以相互比較，通常會以 ^1H 原子共振



頻率(ν_{exp})和參考物 H 原子頻率(ν_{ref})差除以參考物 H 原子頻率表示：

$$\left(\frac{\nu_{\text{exp}} - \nu_{\text{ref}}}{\nu_{\text{ref}}}\right) = \delta \times 10^{-6} \text{ --- (9)}$$

以比值 δ 表示化學位移，單位為 ppm，在 $\nu_0 = 500\text{MHz}$ 下， ^1H 化學位移($\Delta\nu$)通常介於 0~5000Hz，即 0~10ppm。

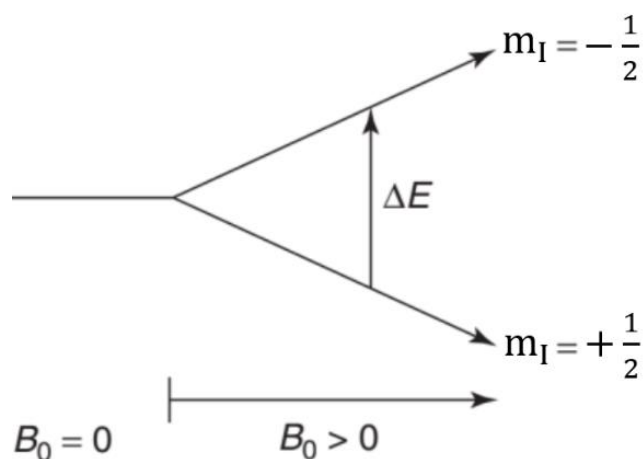


圖 7 磁場能階差示意圖

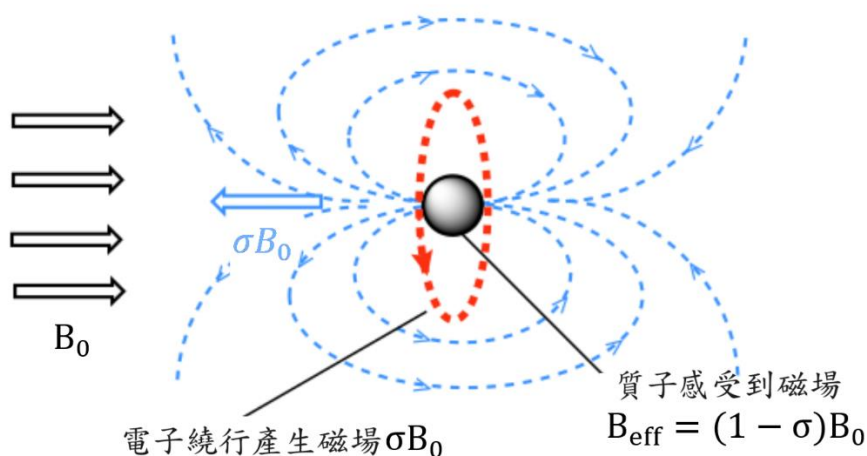
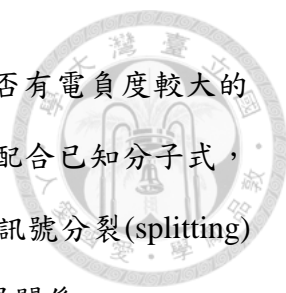


圖 8 電子遮蔽效應示意圖[58]

核磁共振光譜有許多應用方法，在小分子定性及結構分析最常用的是氫譜，氫譜有幾個重要特徵，可用以判斷分子結構，第一是化學位移，從化學位移的強



弱可大致判斷氫原子的級數、是否連接於苯環、結構上附近是否有電負度較大的取代基；第二是光譜積分，從氫譜訊號峰訊號積分值的比例，配合已知分子式，可得知相同化學環境的氫原子數；第三是氫原子自旋耦合產生訊號分裂(splitting)的情形，從訊號分裂的模式可得知不同化學環境氫原子間的位置關係。

^{13}C 自旋量子數為 $1/2$ ，與 ^1H 一樣可產生核磁共振光譜， ^{13}C 譜可以從碳的化學位移判斷碳的化學環境與級數，不同於氫譜的是， ^{13}C 的豐度僅 1.1%、磁矩為 ^1H 的四分之一，且不同化學環境的 ^{13}C 訊號強度有所差異，造成 ^{13}C 譜較難像氫譜一樣得到訊號積分及碳原子間的耦合關係， ^{13}C 譜的靈敏度低於氫譜。 ^{13}C DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) 譜是一種用於判斷 ^{13}C 原子級數的技術，不同角度的 DEPT 譜使不同級數的碳原子呈現正值、負值的訊號或是沒有訊號，DEPT-45 下一、二、三級碳訊號為正值，四級碳無訊號；DEPT-90 下三級碳為正值，一、二、四級碳無訊號；DEPT-135 下一、三級碳為正值、二級碳為負值、四級碳無訊號，以 DEPT-45、90、135 能準確判斷各個碳原子的級數[59]。 ^{19}F 的自旋量子數為 $1/2$ ，有些毒品會以氟作為取代基修飾官能基，本研究使用 ^{19}F 譜確認分析物是否含有氟。


前述 NMR 光譜為一維光譜，對小分子分析，一維光譜通常就能提供充足資訊以描述分子結構，但透過二維光譜所提供的氫-氫、氫-碳原子間耦合關係及氫原子間空間距離關係，能為驗證分子結構、推測構型提供更多證據。關聯性磁振頻譜(Correlation spectroscopy, COSY)的縱軸及橫軸皆為氫譜，二維平面上扣除右上至左下對角線的訊號，剩餘訊號稱為交叉峰(cross peak)，每個交叉峰代表兩個不同化學環境氫原子間具有自旋耦合關係。核歐佛豪瑟效應頻譜 (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, NOESY) 與 COSY 相似，一樣是提供氫原子二維光譜，不同的是 NOESY 提供的是空間的距離關係，所以即使氫原子間沒有自旋耦合，只要距離接近便能產生交叉峰訊號，NOESY 光譜與 COSY 光譜能提供互補的資訊。異核單量子相干譜(Heteronuclear Single Quantum Coherence spectroscopy,

HSQC)可提供不同核種原子的毗鄰關係，本研究中 HSQC 縱軸及橫軸分別為 ^{13}C 譜及氫譜，交叉峰表示碳氫間隔一個鍵結的關係，異核多鍵相關譜(HMBC, Heteronuclear Multiple Bond Correlation)則是提供間隔二至三個鍵結的碳氫原子耦合訊號。

1.4 毒品代謝物

生物體在攝取藥物後，藥物會被體內酵素轉化為代謝物，並通過排遺排出體外，以人類而言，代謝物會透過汗水、尿液等方式排出或是殘留於毛髮[60]、指甲內[61]，代謝物與攝入藥物有高度專一性，通過檢測排泄物藥物代謝物種類即可推斷受測者曾經施用的毒品種類[62]。藥物分子在生物體內發生不同類型的代謝反應，例如氧化、去甲基化或是與葡萄糖、胺基酸等分子結合，使其變成更容易從生物體內排出的化合物。生物體藥物代謝反應通常分成兩階段：Phase I 和 Phase II，兩者涉及反應差別如表 2，多數 Phase I 反應透過細胞色素 P450 (Cytochrome P450, CYP450) 酵素催化完成，CYP450 是一龐大且廣泛存在於生物各界的膜結合酶家族，包括細菌、真菌、植物及動物界生物的細胞內皆可發現不同類別的 CYP450[63]。對人類而言，約 80% 涉及氧化的代謝反應是由 CYP450 中 CYP1、CYP2、CYP3 這三個類別的酵素所完成[64]，不同類型的藥物會由不同種類 CYP450 酵素進行代謝，並發生不同種類的代謝反應。以常見毒品為例(如圖 9)，當 CYP2D6 受質為甲基安非他命時，會將甲基安非他命的苯環氧化為酚，也會促使甲基安非他命二級胺的去甲基反應，當受質為 MDMA 時，CYP2D6 會將 MDMA 亞甲雙氧基氧化成兩個羥基[65]。在愷他命的氧化反應中(圖 10)，催化 R form 愷他命氧化的是 CYP3A4/5，S form 愷他命則是 CYP2A6[66]，CYP450 酵素代謝藥物的複雜性可見一斑。

藥物與代謝物的關係需通過實驗將藥物轉化成代謝物，方能驗證兩者對應關係，取得代謝物理想方法是取得藥物施用者的尿液進行分析，然而以毒品進行人體試驗所承擔風險過於龐大，因此發展出許多衍生藥物代謝物的替代方法。以肝



細胞微粒體、肝細胞配合 NADPH、UDPGA 等試劑模擬體內代謝環境的體外實驗已被證實是可行的藥物代謝物衍生方法[67]，體外實驗優點為操作環境簡便且反應時間快，但也存在酵素濃度高使不同種類酵素競爭反應物、試劑條配反應條件與生物體內實際代謝反應條件存在偏差、缺少完整生物體代謝途徑等缺點，導致衍生出的代謝物與生物體代謝物不盡相同[68] [69]。

生物體代謝模擬包括以豬、鼠等哺乳類進行體內代謝實驗，或是以魚[70]、真菌[71]進行代謝模擬來預測人體代謝結果，各種生物體實驗瑕瑜互見，在某些藥物實驗中已經證明豬、鼠與人類之代謝結果均十分相近，豬又比鼠更為接近，同時豬又能取得大量代謝物進行分析，不考慮實驗難度情況下是最佳選擇[69]。

本研究選擇斑馬魚(*Danio rerio*)代謝模型做為衍伸藥物代謝物的方法，斑馬魚體內的 CYP450 酵素與人類涉及藥物代謝的 CYP1A2、CYP2C9、CYP3A4/5 等酵素有相同代謝功能[72]，在卡西酮類毒品及西布曲名(sibutramine)代謝物結果也與人體代謝物相同[73] [74]，雖然和哺乳類動物相比斑馬魚 CYP450 基因與人類差異性較大，但比真菌、線蟲等非脊椎動物生物接近[74][75]。與哺乳類動物實驗相比，斑馬魚代謝模型操作較簡單，獲取檢體較充足，樣品基質較哺乳類尿液乾淨，是成本較低且有效取得代謝物的方法，與體外實驗相比，斑馬魚代謝模型更能模擬脊椎動物代謝的複雜性，並且能取得更大量的代謝物[73][76]。

Prado 等人將成熟斑馬魚飼養於含有藥物的水溶液中，斑馬魚透過魚鰓將藥物擴散到體內轉化成代謝物，再將代謝物從體內擴散到水中排除，分析水中成分變化得知藥物對應的代謝物[73]。Murari 等人則是以斑馬魚胚胎作為代謝主體，使用 5 日大斑馬魚胚胎，浸泡於含藥物的水溶液中取得代謝物，以胚胎進行實驗可避免動物倫理問題，能明顯觀察到藥物對胚胎成長的影響，缺點是胚胎代謝完整性不如成魚 [94]，基於研究目的考量，本研究採用成熟斑馬魚進行實驗。

表 2 Phase I 和 Phase II 代謝反應區分[77] [78]

Phase I	Phase II
氧化 Oxidation	甲基化 Methylation
還原 Reduction	葡萄糖酸醛化 Glucuronidation
水解 Hydrolysis	乙醯化 Acetylation
水和 Hydration	與胺基酸結合 Conjugation with amino acids
異構 Isomerization	與穀胱甘肽結合 Conjugation with glutathione

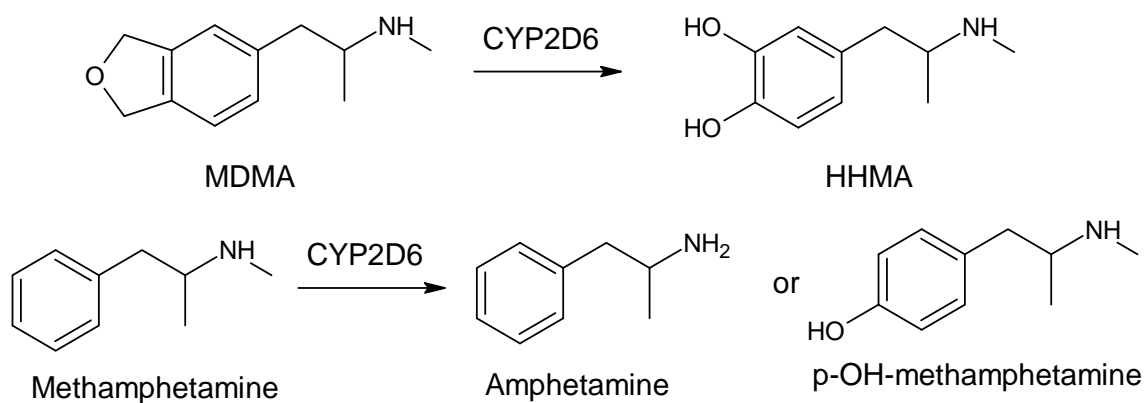


圖 9 CYP2D6 催化 MDMA 及 甲基安非他命 代謝反應

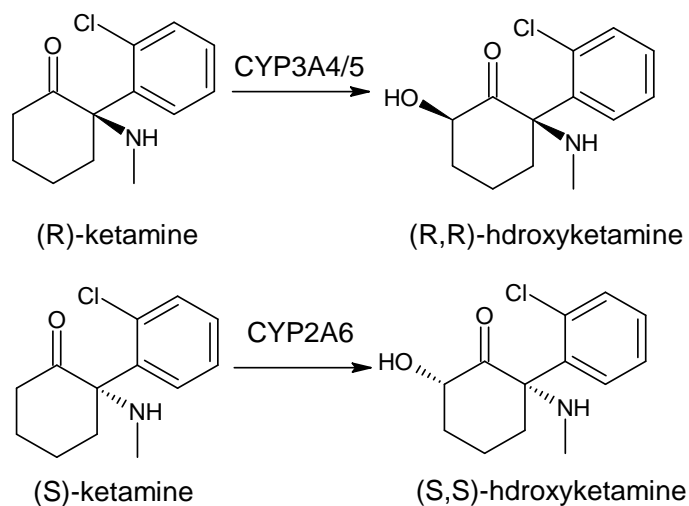


圖 10 (R)-Ketamine 及 (S)-Ketamine 代謝路徑[79]



第二章 未知化合物結構確認

2.1 樣品來源

本研究樣品來源由法務部調查局桃園市調查處(桃園處)提供，桃園處於民國112年4月21日搜索毒品案嫌疑人之居所時，查扣多項毒品原料及3包不明粉末，三包不明粉末分別予以a-9、a-10、a-11之編號，a-9樣品外觀為白色結晶，a-10樣品外觀為白色粉末，a-11樣品外觀為亮黃色結晶(圖11)，經詢問，嫌疑人表示3包粉末均為5年前訂購之樣品，年代久遠無法記得樣品成分。後續桃園處將樣品交由鑑識科學處(鑑識處)檢驗，鑑識處以氣相層析串聯質譜儀分析，發現a-9、a-10、a-11樣品之質譜與現有資料庫內已知毒品之質譜均無法吻合，查詢網路資料亦無法取得相關資訊，推測可能是從未發現過的全新毒品，經後續以NMR及Orbitrap LC-MS分析，獲得三種全新毒品物質結構，資訊如表3。

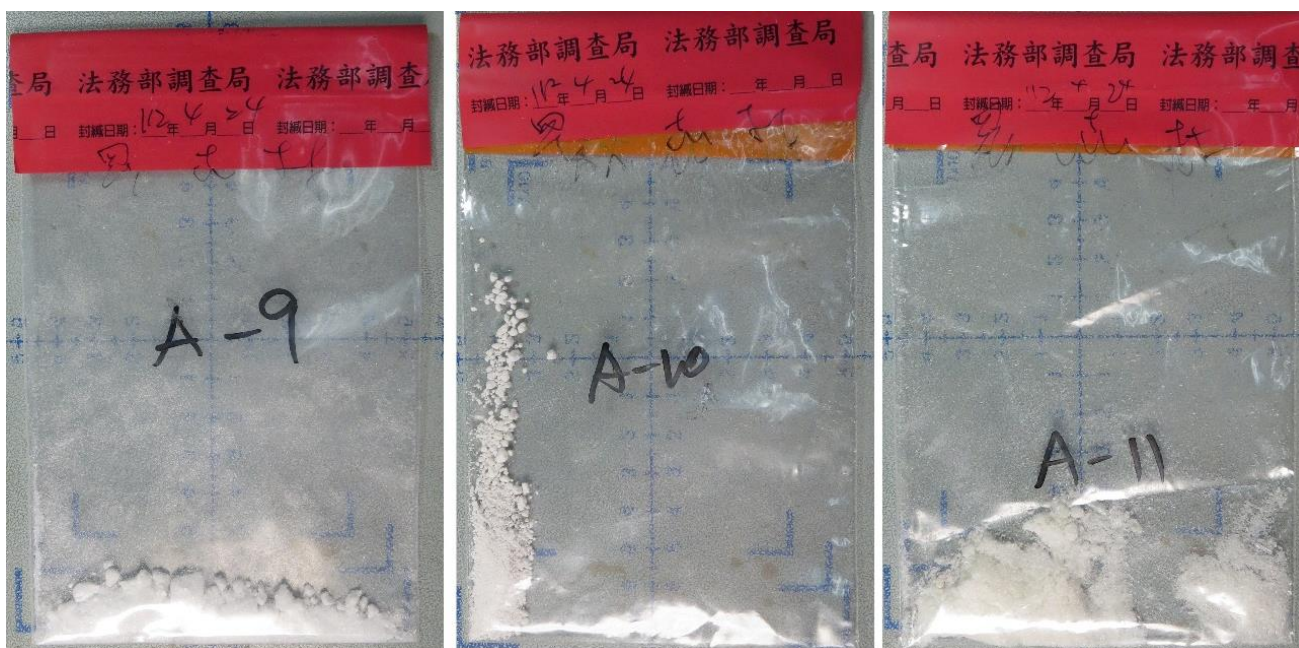
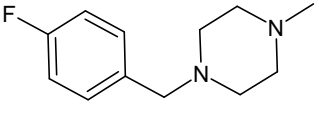
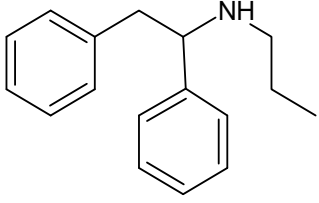
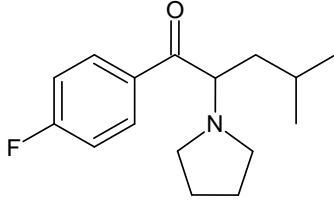


圖 11 樣品 a-9、a-10、a-11 樣品外觀照片

表 3 三種新興精神活性物質資訊

編號	a-9	a-10	a-11
名稱	1-[4-(4-fluorophenyl)methyl]-4-methylpiperazine	N-(1,2-diphenylethyl)propan-1-amine	1-(4-fluorophenyl)-4-methyl-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one
中文名稱	1-(4-氟苄基)-4-甲基哌嗪	N-丙基-1,2-二苯乙胺	4-氟- α -吡咯烷基苯異己酮
結構式			
分子式	C ₁₂ H ₁₇ FN ₂	C ₁₇ H ₂₁ N	C ₁₆ H ₂₂ FNO
分子量	208.2757	239.3560	263.3510
新興毒品類別	主類別：合成興奮劑 次分類：哌嗪類	主類別：合成迷幻藥類 次分類：解離劑	主類別：合成興奮劑 次分類：卡西酮類
相似毒品	1-苄基-4-甲基哌嗪 1-(4-氟苄基)哌嗪	勒非他命	α -吡咯烷基苯異己酮 氟- α -吡咯烷辛苯酮

2.2 分析步驟

為確認未知物之成分，我們先以 GC-MS 進行分析，所得質譜數據以軟體 NIST Spectral Search Program 與內建質譜資料庫進行比對，本研究所使用資料庫版本為 NIST Tandem Mass Spectral Library Version 2.4，資料庫質譜與未知物質譜相似度越高，Match Quality 分數就越高，最高分為 999 分，最低分為 0 分。比對完畢後軟體會將候選結果按分數高低依序羅列，根據實務經驗，我們先排除 Match Quality 低於 800 分之質譜，並逐一人工檢視 800 分以上之比對結果，若未知物與單一資料庫質譜組成離子碎片無差異，即可確定該未知物與該資料庫結果為相同成分，若無符合條件之結果，或是有多個結果均符合條件，則需進一步以 NMR



確認。NMR 取得未知物之氫譜後，將所得氫譜與既有資料庫之氫譜逐一進行比對，若未知物氫譜之化學位移與訊號積分值均與資料庫已知成分之氫譜相同，則採用氫譜比對結果確認未知物成分。

若以 GC-MS 及 NMR 比對皆無符合條件之化合物，則認定此化合物為未知的新型化合物。為了分析新型化合物分子結構，第一步先以 Orbitrap LC-MS 取得未知物之精確分子量，本研究使用之 Orbitrap LC-MS 最高解析度為 140000，此解析度在常見毒品化合物分子量範圍內(100 至 550amu)，可得精確度至小數點下第四位之單一同位素質量(monoisotopic mass)，藉高度精確分子量可得知該化合物之分子式[80]，續以 NMR(Ascend 400 MHz, Bruker) 分析化合物之碳-13 DEPT 譜，COSY，NOESY，HSQC，HMBC 及氟 19 譜，綜合以上分析結果，確認新型化合物之分子結構。

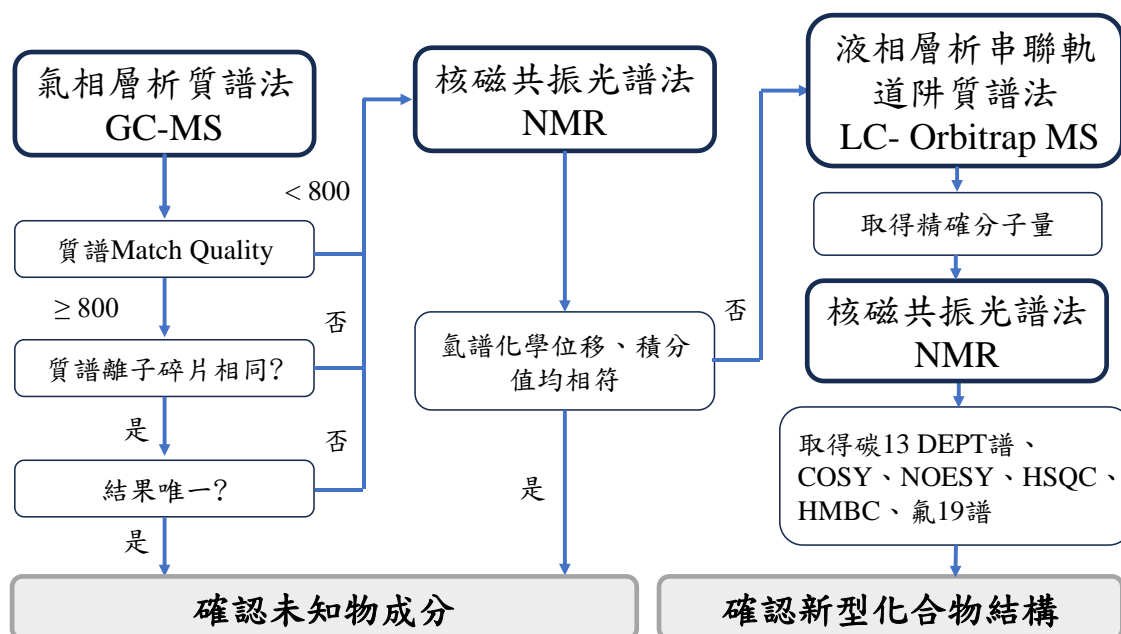


圖 12 未知物分析流程圖



2.3 氣相層析質譜法

取約 1mg 之樣品，至於 2mL 樣品瓶後以 0.5mL 之乙醇(ethanol, 99.9%, J.T[®] Baker)，待樣品完全溶解後，以氣相層析質譜儀(Agilent 8890/5977B, USA)進行分析，搭配儀器使用的毛細管柱為 Agilent DB-5MS(30 m× 0.25 mm, 0.25 μm)，儀器分析參數如表 4。

表 4 GC-MS 分析參數

MS 參數			
離子源	Electron Impact	取樣模式	Scan
四極柱溫度(°C)	150	偵測範圍(m/z)	40-550
碰撞電子能量(eV)	70.0	掃描速率(amu/sec)	1,562
GC 參數			
樣品注射量(μL)	1	總流速(mL/min)	33.5
進樣模式	Split	管柱流速(mL/min)	1
分流比	29.5:1	升溫程序	135°C 維持 0.5 min
進樣口溫度(°C)	295		70°C/min 升溫至 300°C
進樣口壓力(psi)	12.5		300°C維持 12.5 min

2.4 液相層析軌道阱質譜法

秤量 1mg 毒品樣品，以二次蒸餾水配置成濃度為 200ppm 樣品溶液，之後裝入 50mL 玻璃瓶內，放置於冰箱冷藏保存。取 1L 的二次蒸餾水加入 1mL 的甲酸(formic acid, LC/MS grade, Merck)配置為沖提液 A，取乙腈(acetonitrile, LC/MS grade, Merck)作為沖提液 B，取 5mL 沖提液 A 及 5mL 沖提液 B 混合成稀釋液。分析前取 50μL 濃度為 200 ppm 樣品溶液與 950μL 之稀釋液混合成 10ppm 之待測溶液，待測溶液以玻璃滴管轉移至加裝注射型過濾器(0.22μm, Global scientific)的塑膠針筒過濾雜質，濾液盛裝內嵌 250 μL insert 的 2mL 樣品瓶內，以 Thermo fisher Ultimate 3000- Q Exactive Focus 之液相層析軌道阱質譜進行分析，分析參數如表 5

表 5 Orbitrap LC-MS 分析參數

Orbitrap MS 參數			
離子源	Atmospheric pressure ionization	取樣模式	Full MS/ddMS ²
Isolation Window	1.0 m/z	偵測範圍 (m/z)	50-700
Normalized Collision Energy (eV)	20, 40, 60 (Step)	掃描速率	Full MS:3 Hz ddMS ² :12 Hz
Polarity	Positive	解析度	17,500
LC 參數			
樣品注射量 (μL)	2.0	管柱溫度 (°C)	40
沖提液梯度	B 液比例： 0~3%: 0~1 min 3~10%: 1~3 min 10~50%: 3~6 min 50~100%:6~10 min 100~3%:18~21 min	管柱條件	Agilent Poroshell 120 3.0×100mm, C18, 2.7μm.
		管柱流速	1~15 min:0.3 mL/min 15~20min:0.4mL/min 20~21min:0.3mL/min

2.5 核磁共振光譜法分析條件

取約 1mg 的樣品至於玻璃試管中，依樣品特性取約 1mL 之 D₂O (99.8% D, Arcos)或 CDCl₃(99.8%D, CIL, Inc.)，將試管內的樣品充分溶解，溶解完畢後將溶液以玻璃滴管轉移至加裝注射型過濾器的塑膠針筒過濾雜質，濾液至於玻璃試管內，後將濾液以玻璃滴管轉移至 NMR tube 中，所有實驗皆在溫度 300 K 下進行，續以 NMR(Ascend 400 MHz, Bruker)進行 ¹H 譜、¹³C 譜、¹³C DEPT 譜、COSY、NOESY、HSQC、HMBC、¹⁹F 譜分析，NMR 分析參數及光譜參數如表 6，當中 NOESY mixing time 為 0.75 秒。



表 6 NMR 分析參數及光譜參數 (二維光譜 F2 表橫軸參數，F1 表縱軸)

光譜種類	Spectrometer Frequency (MHz)	Pre-scan Delay (μ sec)	Acquisition Time (sec)	Spectral Resolution (Hz)	Spectral Width (ppm)	Size of Real Spectrum
^1H	500	21.0	2.29	0.436	14.28	16384
^{13}C	125.75	18.0	2.36	0.424	200.86	65536
^{13}C DEPT	100.62	6.50	0.688	0.727	236.60	32768
COSY (F2/F1)	500/500	21.0	0.143/0.036	6.98/6.98	14.28/14.28	1024/1024
NOESY (F2/F1)	500/500	21.0	0.143/0.018	6.98/6.98	14.28/14.28	1024/1024
HSQC (F2/F1)	500/125.75	21.0	0.143/0.006	6.98/20.27	14.28/165.0	1024/1024
HMBC (F2/F1)	500/125.75	21.0	0.143/0.005	6.98/27.02	14.28/220.0	1024/1024
^{19}F	470.59	18.0	0.17	2.93	204.3	32768



2.6 分析結果

2.6.1 氣相層析質譜比對結果

a-9 TIC(total ion chromatogram)如圖 55，滯留時間(retention time, RT)為 2.685 分鐘，a-9 質譜如圖 56，質譜比對結果及離子碎片如圖 13 上半部分是 a-9 質譜，下半部分是比對結果與 a-9 最接近 1-(4-fluorobenzyl)piperidin-4-amine 之質譜，比對 match quality 為 712 分，兩者分子量相同，質譜主要離子碎片 $m/z=109$ 相同，但在大分子量之離子碎片 $m/z = 191$ 有明顯差異， $m/z = 191$ 是脫去 NH_3 後的離子碎片，然而 a-9 結構沒有一級胺，無法直接脫去 NH_3 ，a-9 有 $m/z = 137$ 離子碎片，但比對到的結果沒有，從這些離子碎片的差異，可推測 a-9 結構與 1-(4-fluorobenzyl)piperidin-4-amine 相似但不相同。

a-10 TIC 如圖 57，在 $\text{RT} = 3.234\text{min}$ 處有一主要訊號峰，在 $\text{RT} = 2.761\text{min}$ 及 $\text{RT} = 3.091\text{min}$ 處有兩個強度較小成分分別為 bibenzyl 及未知物的訊號峰，a-10 質譜如圖 58，質譜比對結果及離子碎片結構如圖 14，圖 14 上半部分是 a-10 質譜，下半部分是比對結果與 a-10 最接近之 N-ethyl-n-methyl-1,2-diphenylethanamine 質譜，Match Quality 為 853 分，兩者質譜主要離子碎片 $m/z = 148$ 及其他離子碎片均相同，但 a-10 多了 $m/z = 106$ 離子碎片，由於 N-ethyl-n-methyl-1,2-diphenylethanamine 為三級胺，要形成 $m/z = 106$ 的碎片會比 a-10 困難，N-ethyl-n-methyl-1,2-diphenylethanamine 有 $m/z = 42$ 離子碎片但 a-10 沒有，是因為 a-10 胺基連接的是丙基，要形成 $m/z = 42$ 結構較為困難，從這細微差異可確定 a-10 與 N-ethyl-n-methyl-1,2-diphenylethanamine 結構不相同。

a-11 TIC 如圖 59， $\text{RT}=3.170\text{min}$ ，a-11 質譜如圖 60，質譜比對結果如圖 15。a-11 比對結果為 4-Fluoro-Pyrrolidinohexanophenone (4F-PHP)，Match Quality 為 883 分，兩者質譜主要離子碎片 $m/z = 140$ 及其他離子碎片均相同，但 a-11 次要離子碎片在 $m/z = 98$ 與 4F-PHP $m/z = 95$ 有差別，這細微差異必須進一步以 NMR 分析，才能確認 a-11 與 4F-PHP 的差異。

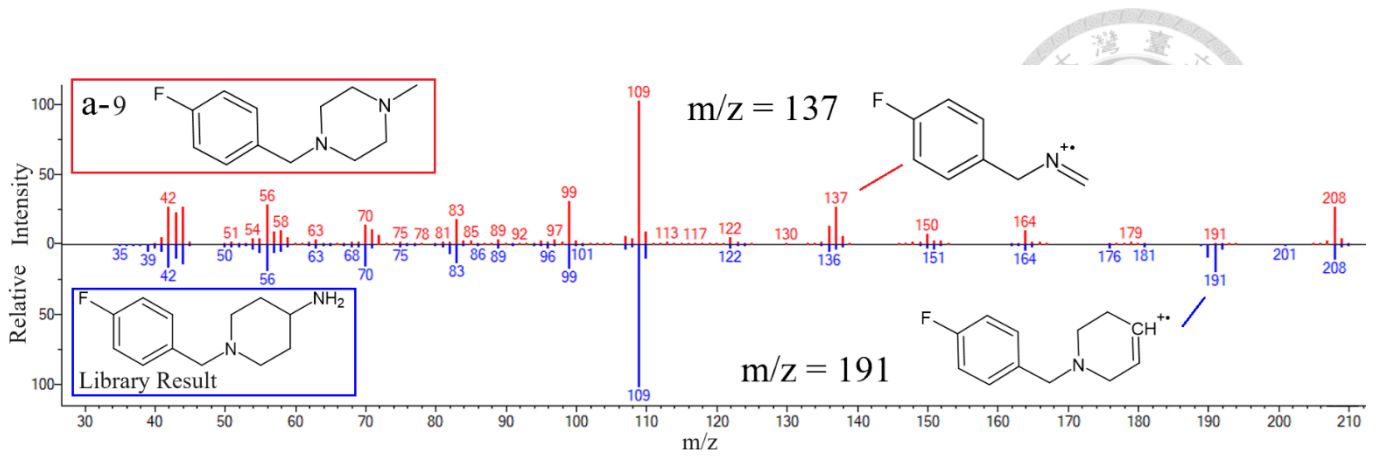


圖 13 a-9 質譜比對結果

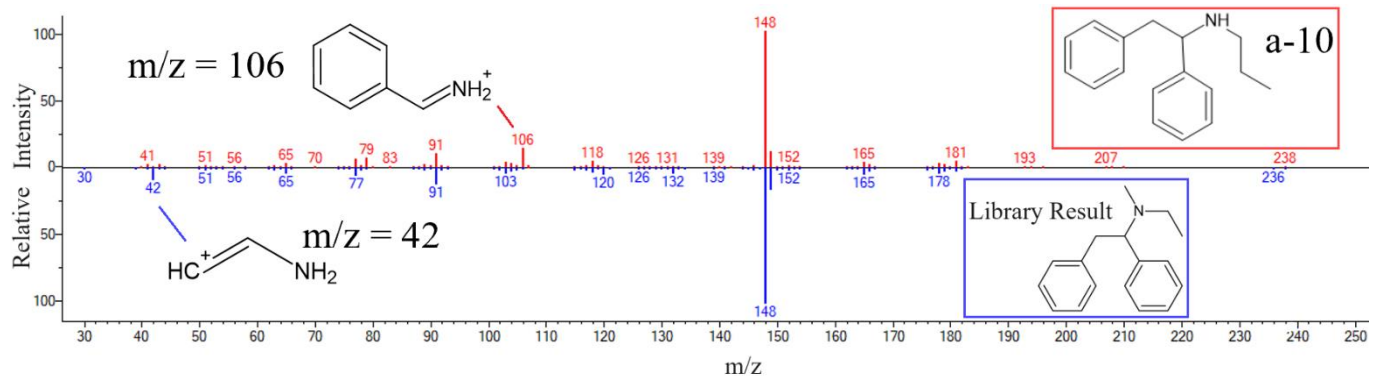


圖 14 a-10 質譜比對結果

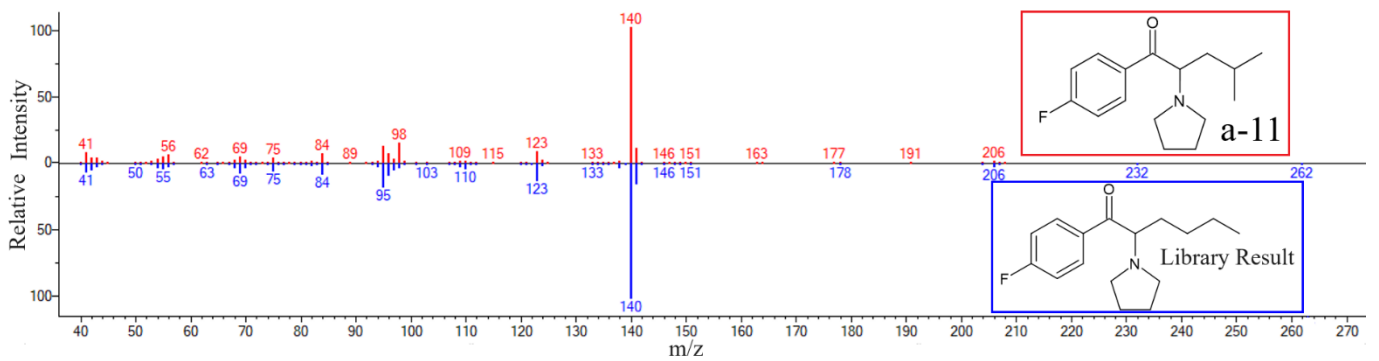


圖 15 a-11 質譜比對結果



2.6.2 液相層析軌道阱質譜法分析結果

a-9 10ppm 溶液在 Full MS 模式下得到 TIC 如圖 61，在 $RT = 1.90 \text{ min}$ ，有一明顯訊號峰，其質譜如圖 62， $m/z = 209.1433$ 。Full MS 結束後進入 ddMS 模式，在此模式下，儀器會選擇 Full MS 模式下訊號最強， $m/z = 209.1433$ 之母離子進入碰撞室，將母離子破碎成二次質譜，該訊號峰的二次質譜結構如圖 16，二次質譜中 $m/z = 109.0442$ 、 99.0913 、 58.0653 三個訊號較強的子離子，與 a-9 之氣相層析質譜(圖 56)中 $m/z = 109$ 、 99 、 58 離子相符，離子結構與 a-9 結構吻合，確認 $RT = 1.90 \text{ min}$ 的訊號峰就是 a-9， $m/z = 209.1433$ 為 a-9 氫離子化後之單一同位素質量。

a-10 10ppm 溶液在 Full MS 模式下得到 TIC 如圖 63，在 $RT = 8.48 \text{ min}$ ，有一明顯訊號峰，其質譜如圖 64，得到母離子 $m/z = 240.1727$ 。ddMS 模式下該訊號峰的二次質譜及如圖 17，二次質譜兩個訊號較強的子離子 $m/z = 181.1017$ 、 166.0782 與氣相層析質譜(圖 58)的主要離子碎片 $m/z = 148$ 不同，但與次要離子碎片 $m/z = 181$ 、 166 相符，質譜中離子質荷比相同但訊號強度有所差異，可歸因於兩種質譜離子化方式差異所致，因此仍可確定 $RT = 8.48 \text{ min}$ 的訊號峰就是 a-10， $m/z = 240.1727$ 為 a-10 氫離子化後之單一同位素質量。

a-11 10ppm 溶液在 Full MS 模式下得到 TIC 如圖 65，在 $RT = 8.26 \text{ min}$ ，有一明顯訊號峰，其質譜如圖 66，得到母離子 $m/z = 264.1738$ 。ddMS 模式下該訊號峰的二次質譜結構如圖 18，二次質譜中訊號最強的子離子 $m/z = 109.0451$ 與氣相層析質譜(圖 60)的訊號最強的離子碎片 $m/z = 140$ 不同，但次強子離子 $m/z = 140.1434$ 、 123.0243 與氣相層析質譜中幾個次強離子碎片 $m/z = 140$ 、 123 相符，可以確定 $RT = 8.26$ 之訊號峰為 a-11， $m/z = 264.1738$ 為 a-11 氫離子化後之單一同位素質量。

為得到更精準的單一同位素分子量，將三種藥物於 Full MS 模式下得到的分子量輸入 inclusion list 進行 Full MS/ddMS² 掃描，此實驗條件與前述實驗相同，但質譜儀會將已設定的母離子通入 HCD 碰撞室產生子離子，其他離子皆會被四極柱排除，結果如圖 67，將單一同位素質量以內建軟體比對所得分子式結果如表 27。

A9_ACN-H2O_10ppm #599 RT: 1.88 AV: 1 NL: 8.62E7
 T: FTMS + p ESI d Full ms2 209.1433@hcd40.00 [50.0000-230.0000]

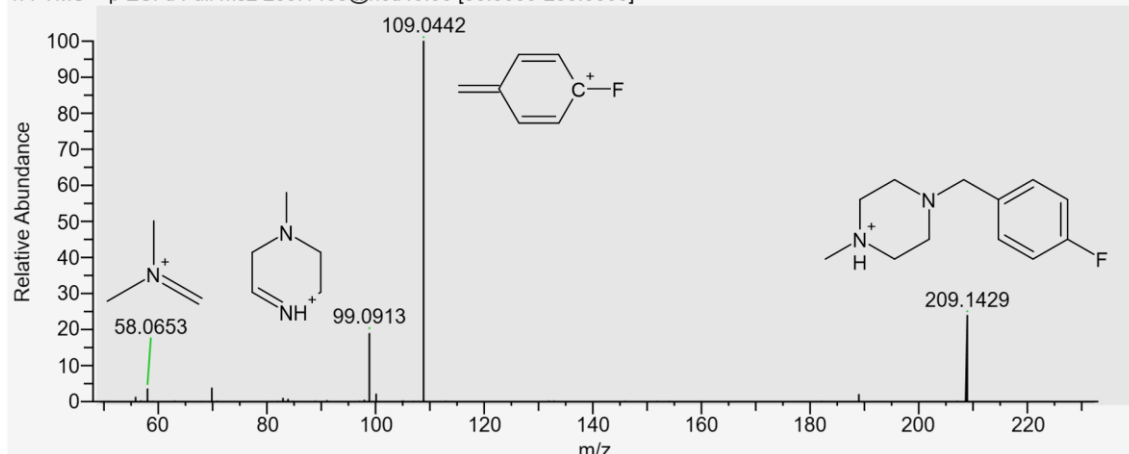


圖 16 a-9 二次質譜

A10_ACN-H2O_10ppm #2402 RT: 8.51 AV: 1 NL: 4.98E8
 T: FTMS + p ESI d Full ms2 240.0695@hcd40.00 [50.0000-265.0000]

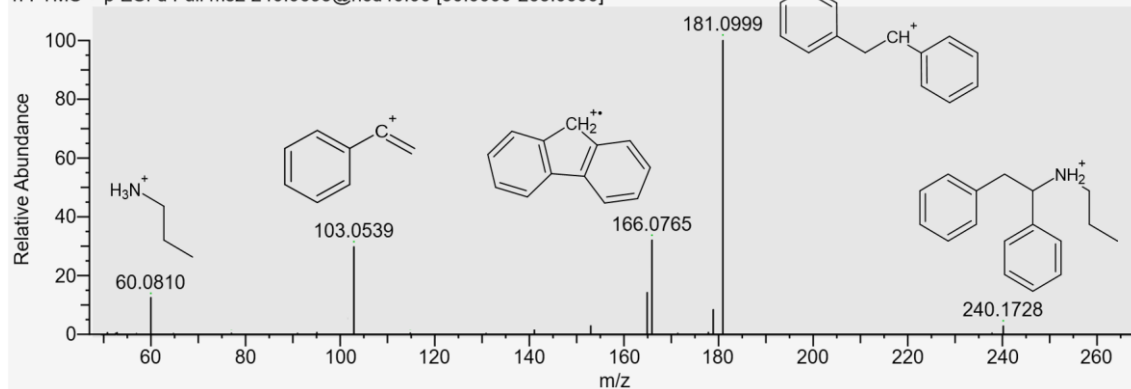


圖 17 a-10 二次質譜

A11_ACN-H2O_10ppm #2337 RT: 8.26 AV: 1 NL: 7.74E8
 T: FTMS + p ESI d Full ms2 264.0600@hcd40.00 [50.0000-285.0000]

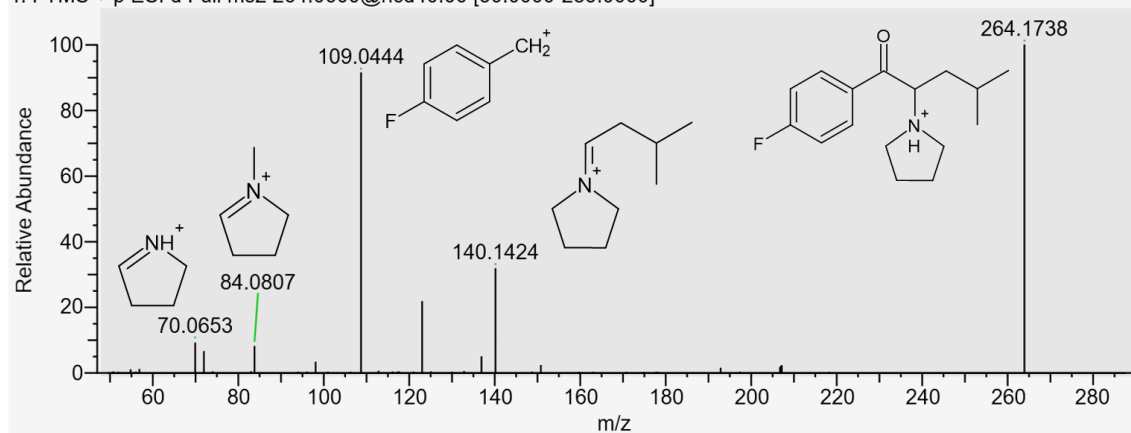


圖 18 a-11 二次質譜



2.6.3 核磁共振光譜法分析結果

2.6.3.1 a-9 核磁共振光譜

a-9 的氫譜及氫原子標號如圖 19，從訊號積分指比例可推算相同化學環境氫原子數量，甲基 3 個氫(H1)， $\delta = 2.92$ ppm，單態(singlet)；亞甲基 2 個氫(H3)， $\delta = 4.37$ ppm，單態；哌嗪上的 8 個氫(H2)形成 $\delta = 3.1\sim 3.9$ ppm 寬峰，寬峰形成是由於哌嗪椅型結構在常溫下快速變換，導致訊號重疊無法區分接近甲基與接近亞甲基兩組氫原子訊號的差異[81]；苯環靠近氟的 2 個氫原子(H5)， $\delta = 7.13$ ppm，苯環上靠近亞甲基 2 個氫原子(H4)， $\delta = 7.44$ ppm， $\delta = 4.7$ ppm 處的訊號源自溶劑 D_2O 中少量的 1H 原子。

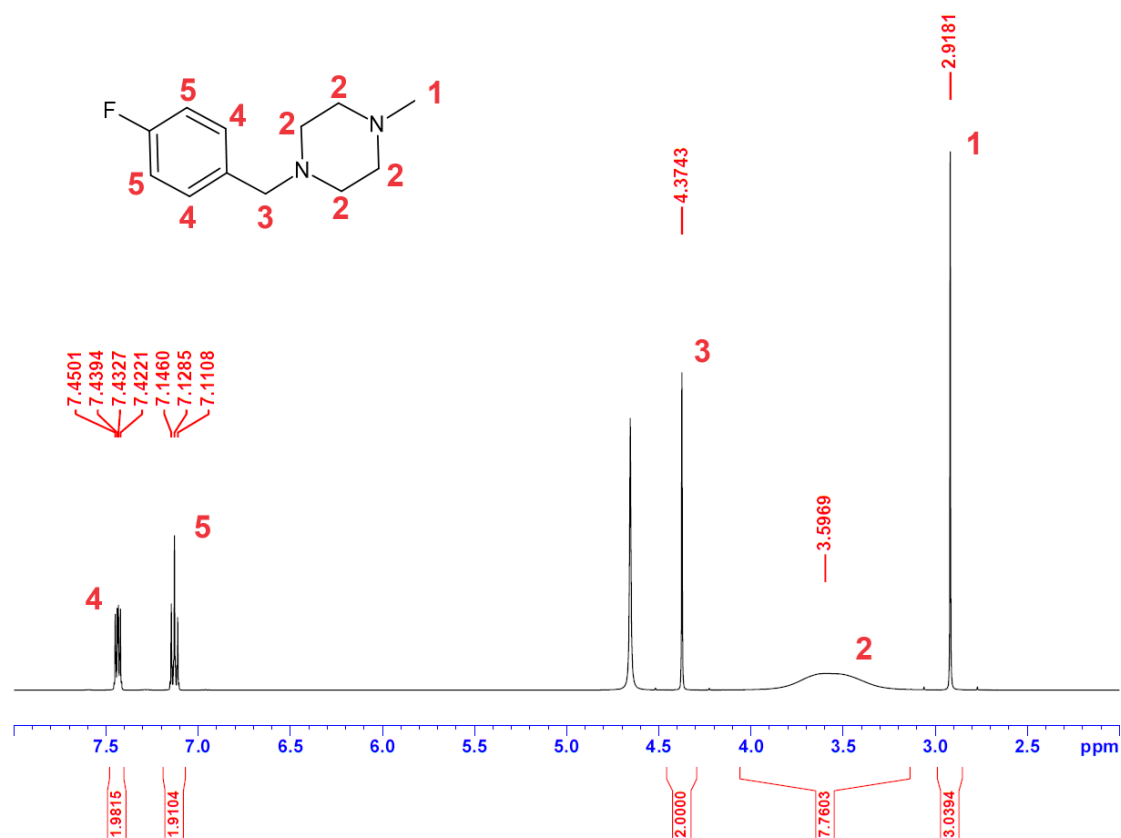


圖 19 a-9 氫譜

a-9 的碳譜及碳原子標號如圖 20，DEPT 譜如圖 21，配合 DEPT 譜可發現 $\delta = 160.5$ ppm 的 C8 與 $\delta = 121.3$ 的 C6 為四級碳，C8 因氟原子自旋耦合分裂成雙態(doublet)， $\delta = 131.3$ ppm 的 C7 與 $\delta = 114.1$ ppm 的 C5 為三級碳， $\delta = 57.4$ ppm 的

C4、 $\delta = 48.0$ ppm 的 C3、 $\delta = 45.8$ ppm 的 C2 為二級碳， $\delta = 40.6$ ppm 的 C1 為一級碳。a-9 ^{19}F 譜如圖 68，在 $\delta = -112.8$ ppm 有一訊號峰。

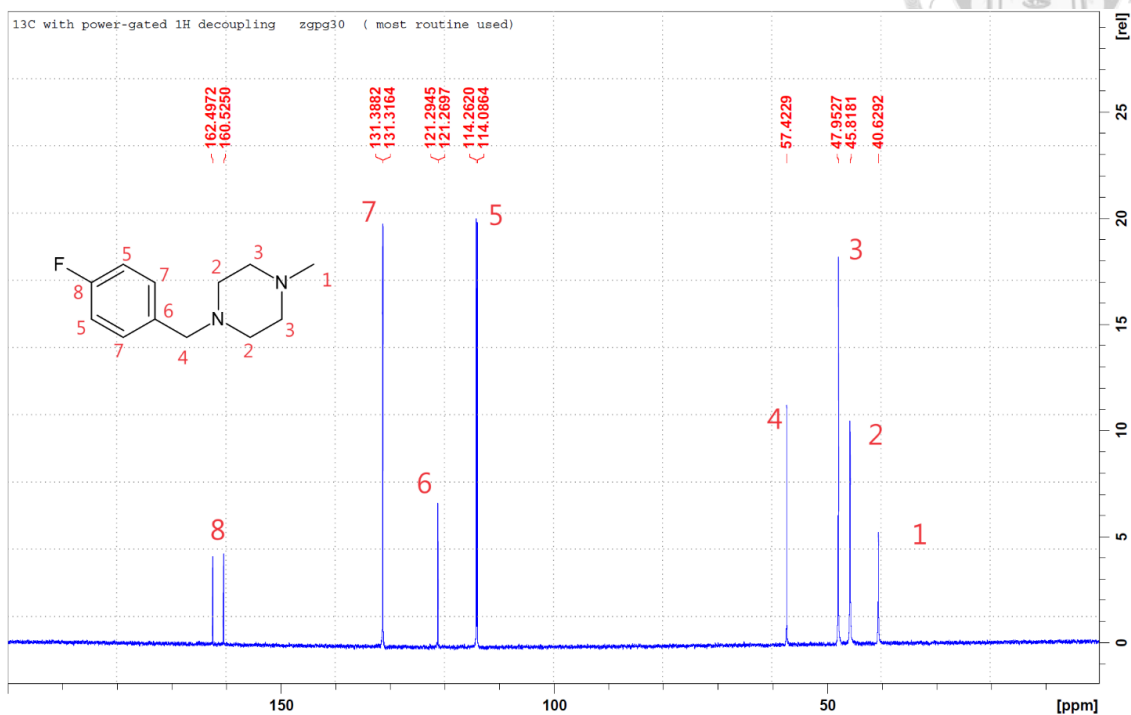


圖 20 a-9 ^{13}C 譜

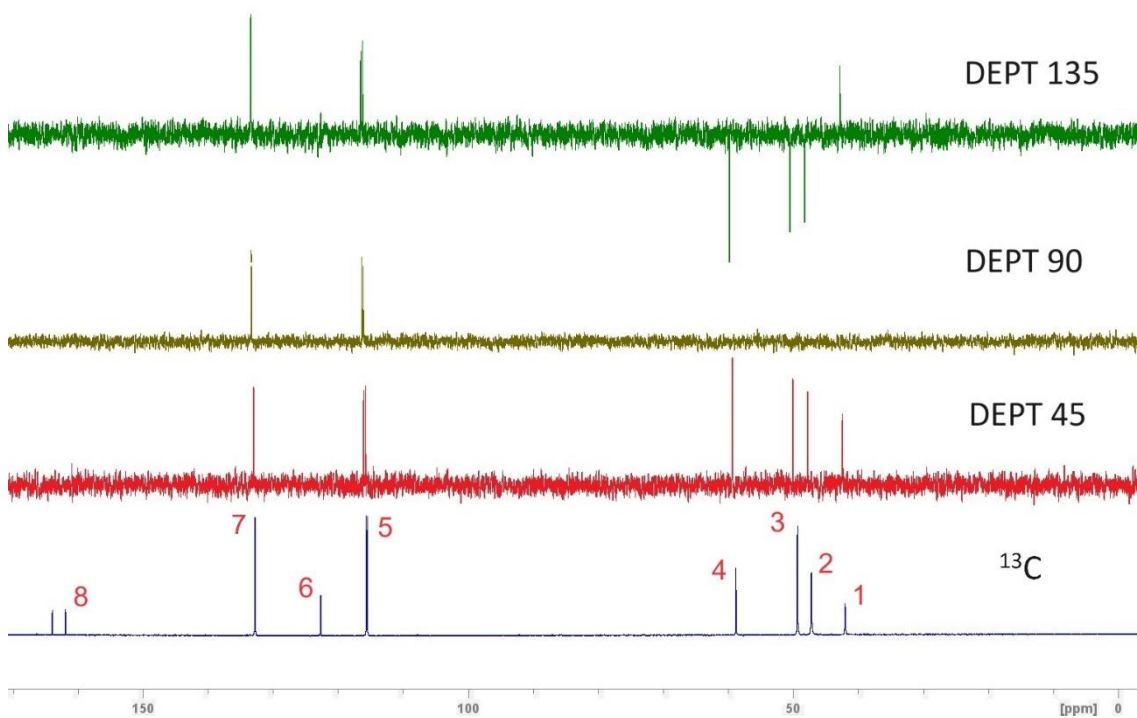


圖 21 由下而上依序為 a-9 ^{13}C , DEPT-45, DEPT-90, DEPT-135 譜

以 $\delta(F2,F1)$ 表示二維光譜訊號位置，F2 為 X 軸化學位移，F1 為 Y 軸化學位移，單位均為 ppm，a-9 COSY 譜如圖 22， $\delta(7.17,7.45)$ 有 H4-H5 耦合交叉峰。

a-9 NOESY 譜如圖 23， $\delta(2.91,3.50)$ 有 H1-H2 交叉峰， $\delta(4.32,3.50)$ 有 H2-H3 交叉峰。H4 與 H5 化學環境相似，單以氫譜及碳譜難以區別，在 H3 與空間上距離較近的 H4 耦合，不與較遠之 H5 耦合，因此有 $\delta(4.32,7.45)$ 有 H3-H4 交叉峰，無 H3-H5 之交叉峰，因此 NOESY 可區別 H4 及 H5 的差異。 $\delta(7.45,3.50)$ 有 H2-H4 交叉峰，因 H2-H4 空間距離較遠，可看出此交叉峰訊號較弱， $\delta(7.17,7.45)$ 有 H4-H5 交叉峰。

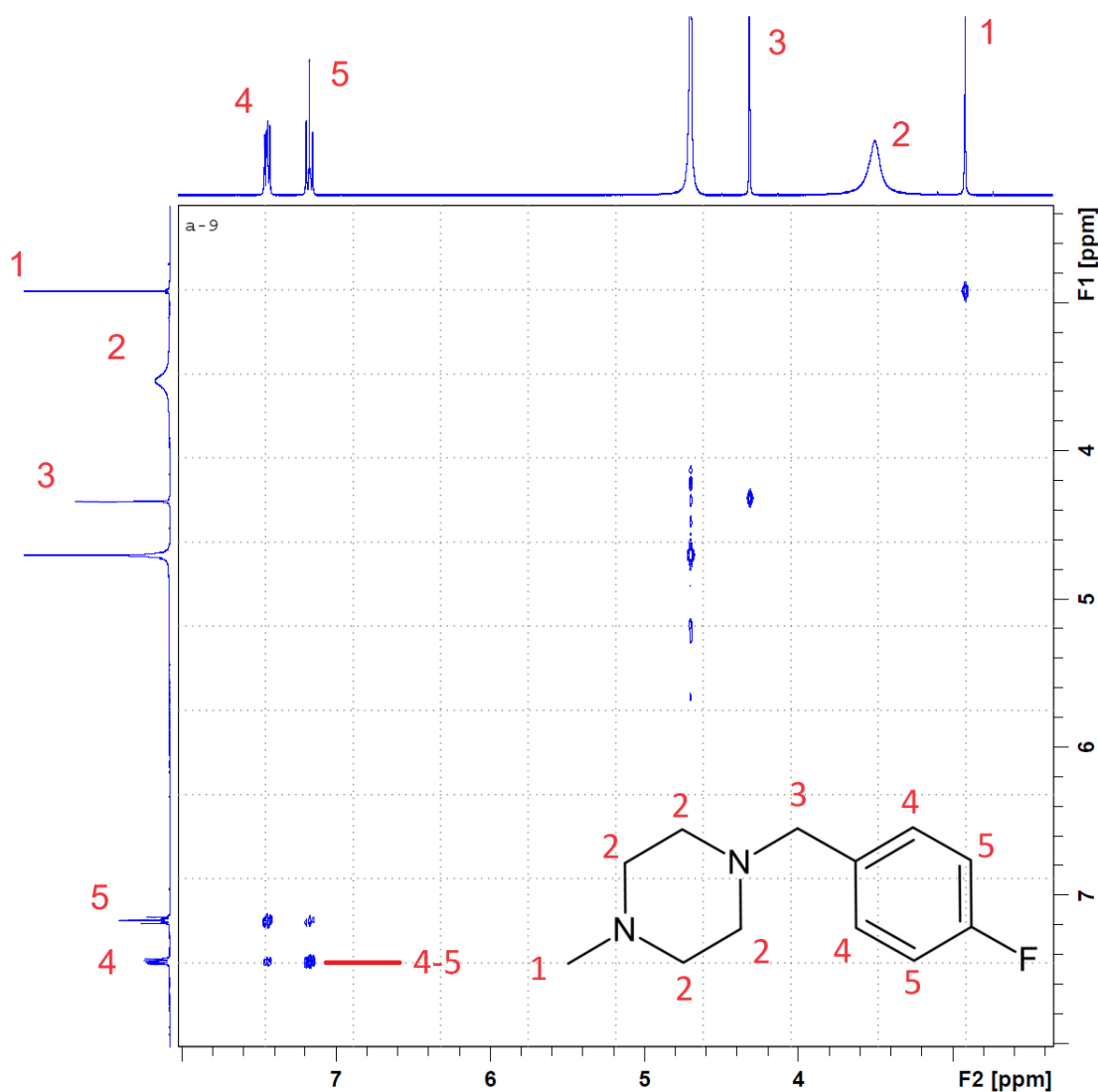


圖 22 a-9 COSY 譜

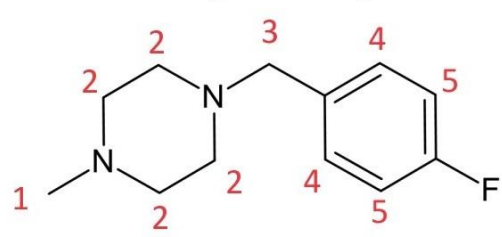
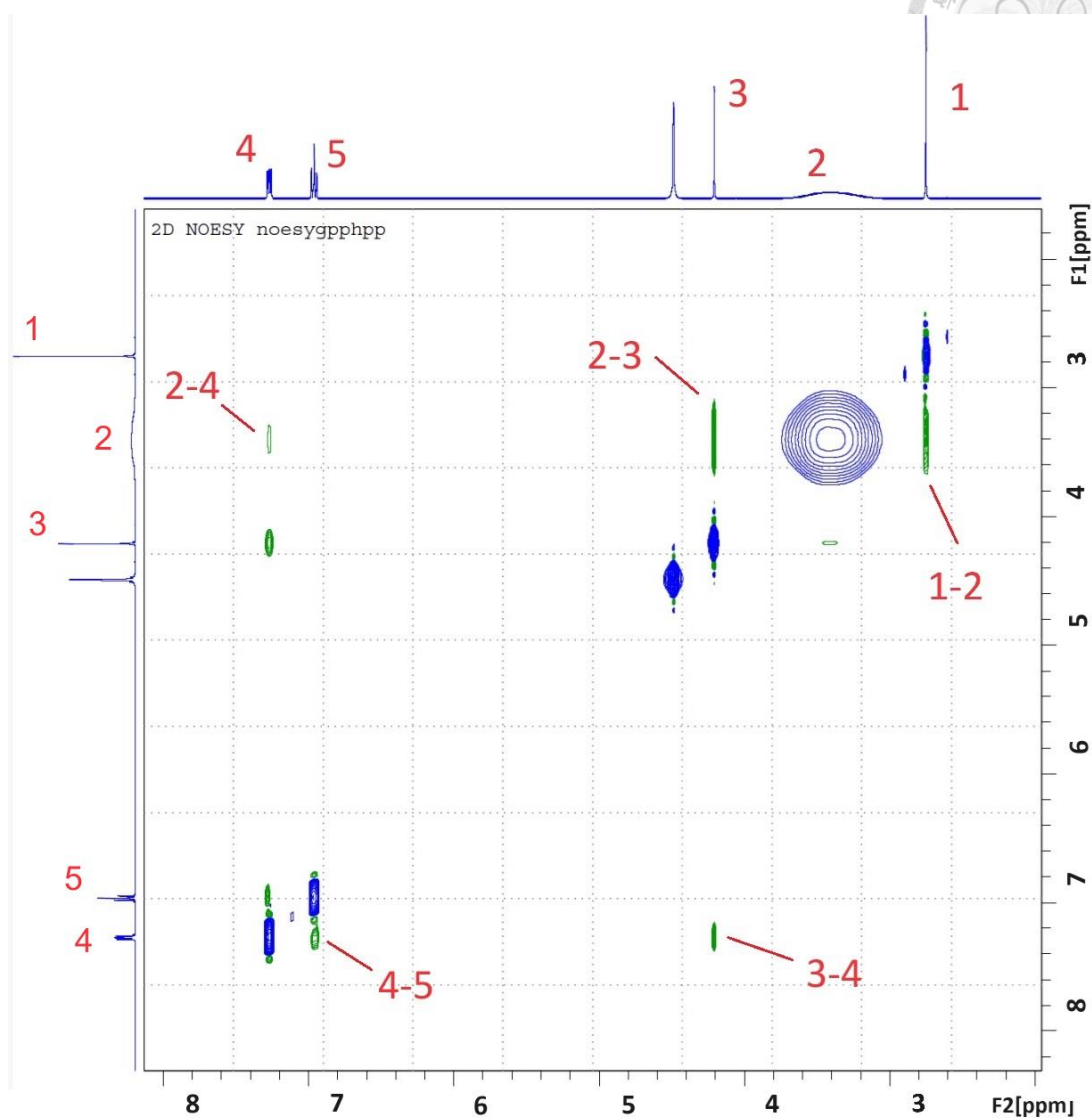


圖 23 a-9 NOESY 譜

a-9 HSQC 譜如圖 24， $\delta(2.91,40.6)$ 有 H1-C1 交叉峰， $\delta(3.50,45.8)$ 有 H2-C2 交叉峰且 $\delta(3.53,48.0)$ 有 H2-C3 交叉峰，此二組交叉峰可看出 H2 與兩個不同的碳原子鍵結，H2 為兩組不同化學環境氫原子訊號，因峰寬重疊導致看似單一訊號， $\delta(7.17,114)$ 有 H5-C5 交叉峰， $\delta(7.45,131)$ 有 H4-C7 交叉峰。

HMBC 譜如圖 25，HMBC 可呈現碳與氫原子間格 2 或 3 個鍵結的耦合訊號，H1 與 C3 間隔 3 個鍵結， $\delta(2.92,48.0)$ 有 H1-C3 交叉峰，證明 C3 訊號為哌嗪上較靠近 H1 的 2 個碳原子， $\delta(4.32,131)$ 有 H3-C7 交叉峰，證明 C7 訊號為苯環上較靠近 H3 之 2 個碳原子，a-9 HMBC 交叉峰及關連氫、碳原子如表 28。

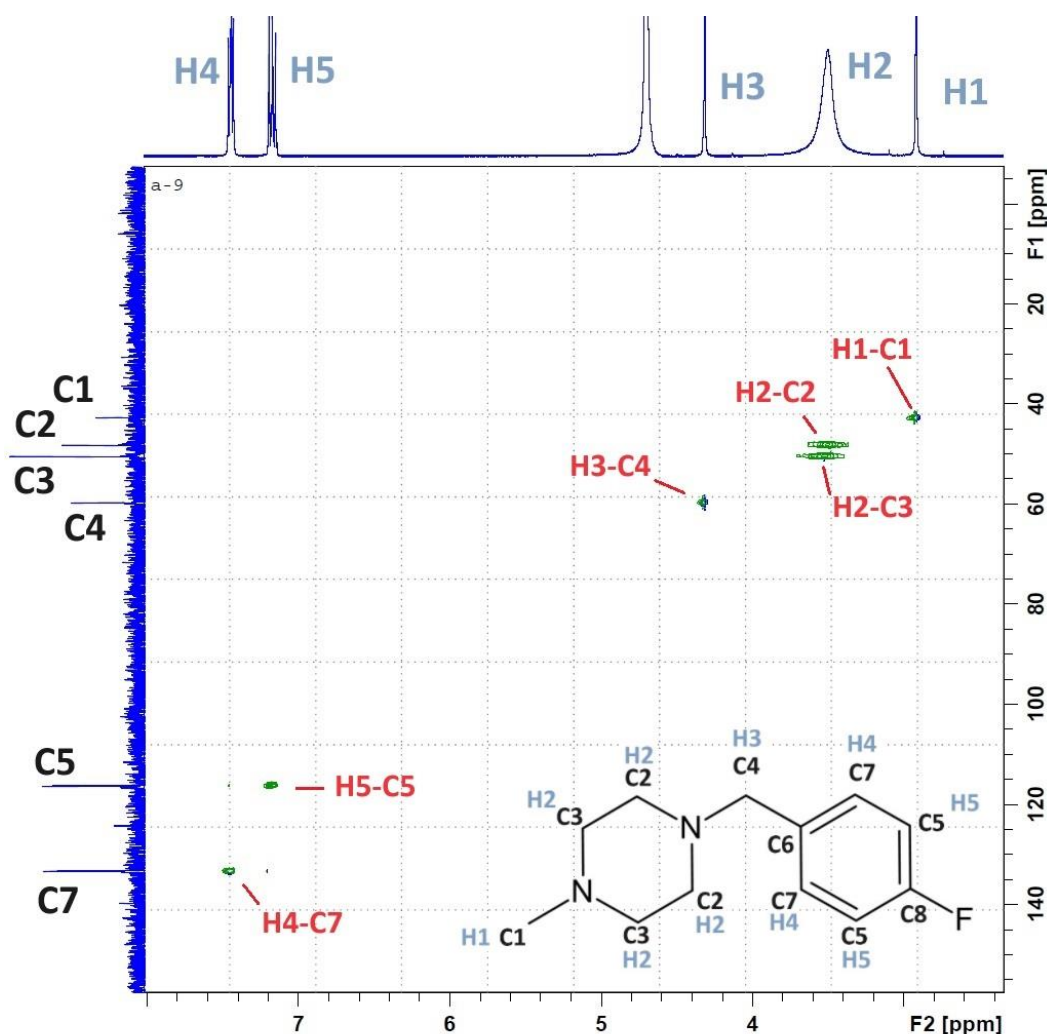


圖 24 a-9 HSQC 譜

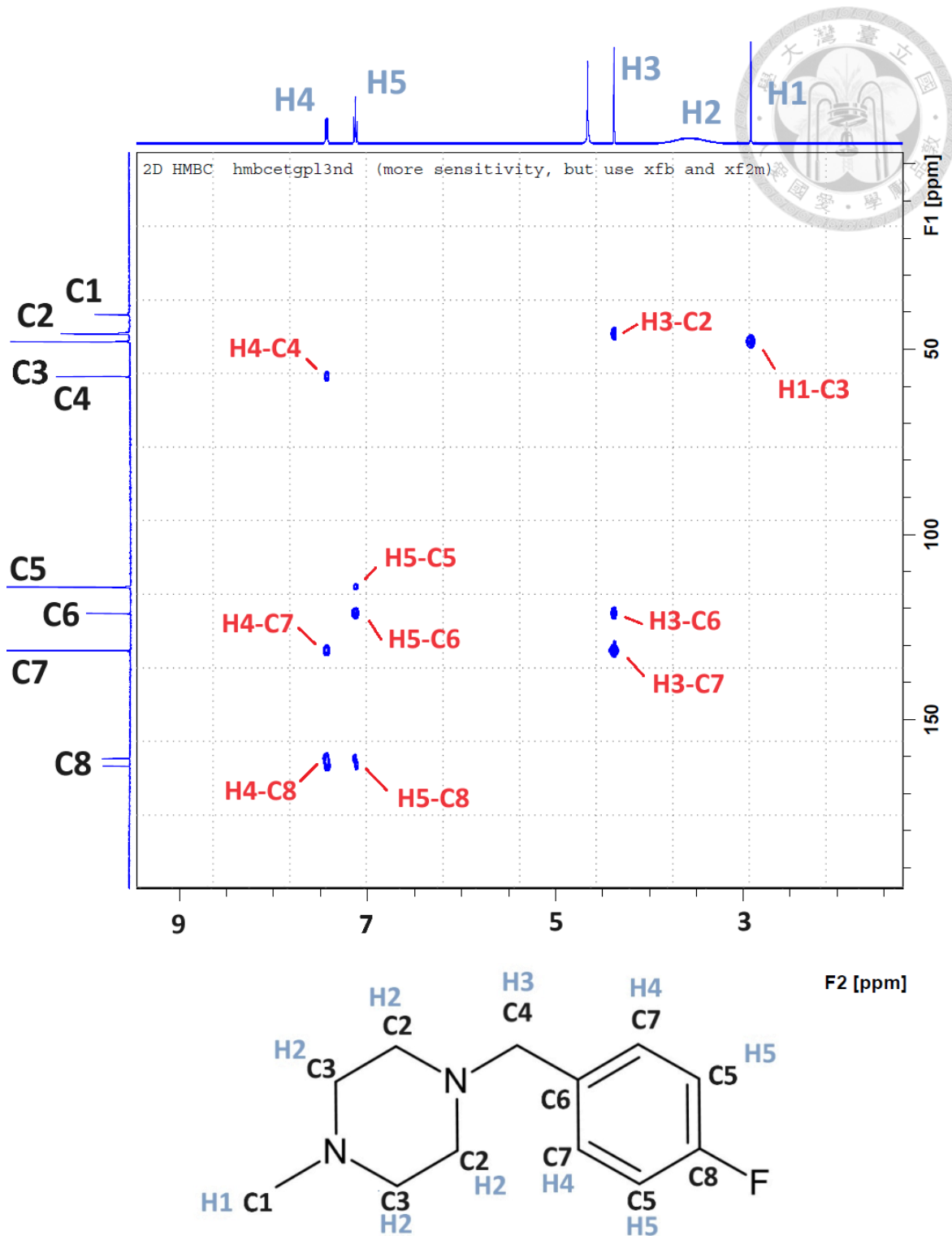


圖 25 a-9 HMBC 譜



2.6.3.2 a-10 核磁共振光譜

a-10 氫譜及氫原子編號圖 26，溶劑為 CDCl_3 ，氫原子訊號列表如表 29，在氫譜中可看到一些強度較小的雜訊來自樣品中的不純物，排除這些訊號，屬於 a-10 的訊號以 H1~H9、 H_N 進行標記。H5 及 H5' 為同一亞甲基上的兩個非對映位 (diastereotopic) 氫原子，因立體障礙導致化學環境差異而有不同的化學位移，這個差異可在圖 26 中的 Newman projection 看出， $\delta = 7.09$ 包含苄(甲苯)基間位及對位的三個氫原子，間位及對位氫原子應有化學位移差異，然而差異過小無法區分，因此統一標號為 H9， $\delta = 7.09$ 苯基上三個 H7 氫原子也是相同情形。

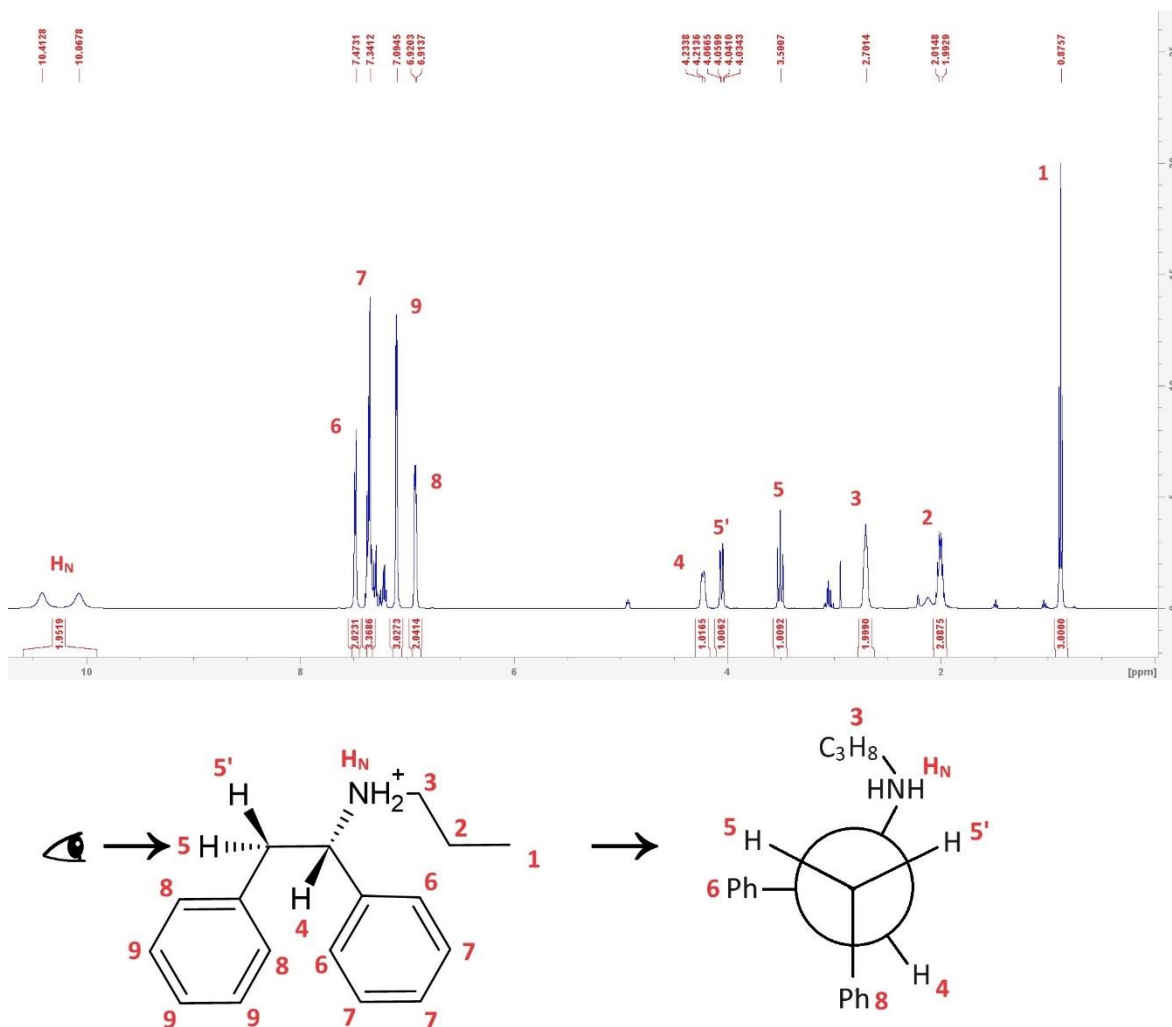


圖 26 a-10 氫譜

碳譜如圖 27，DEPT 譜如圖 28，碳原子編號及級數如表 30， $\delta = 77$ 是溶劑 CDCl_3 的訊號，從 DEPT 譜可得知 C2、C3、C5 為二級碳。

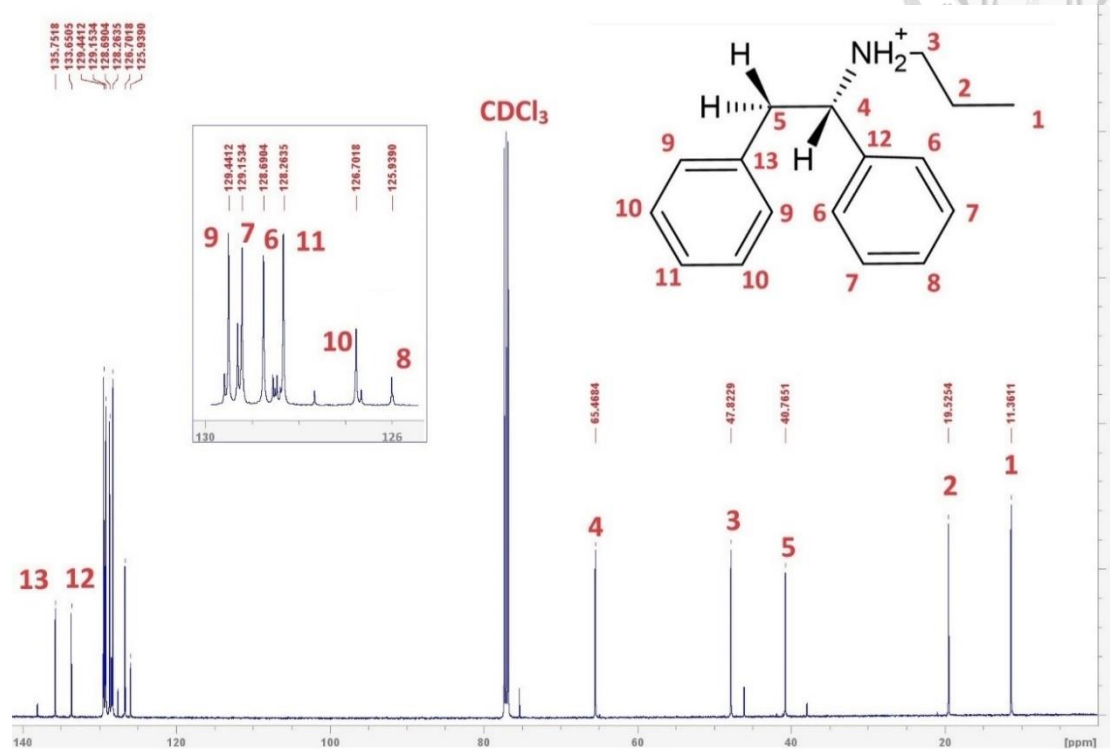


圖 27 a-10 ^{13}C 譜

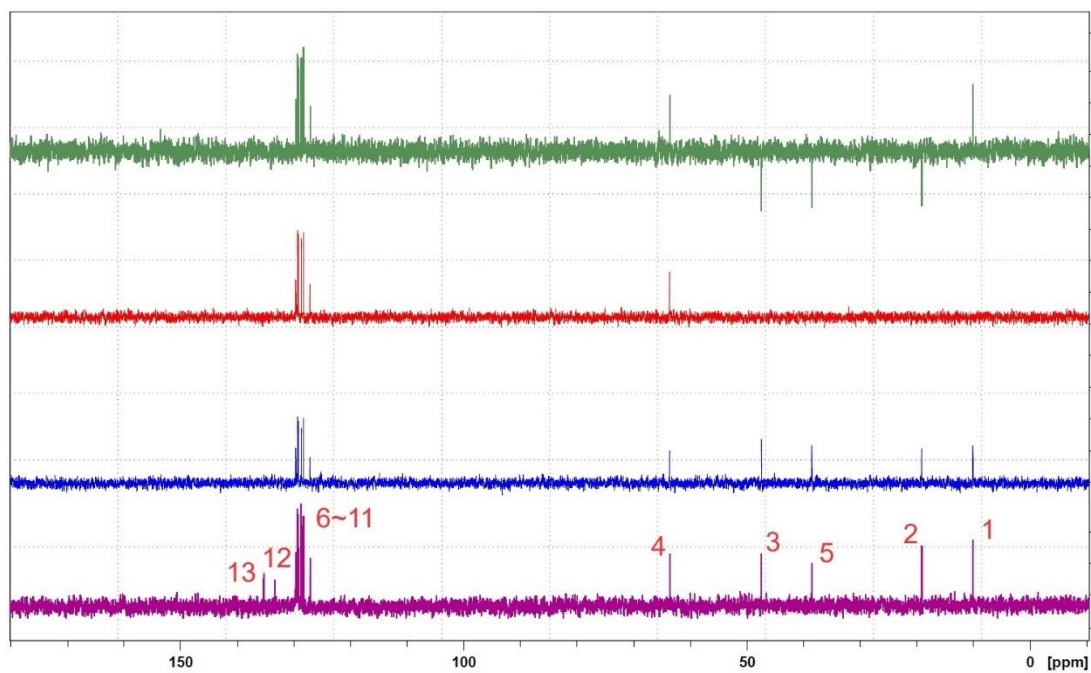



圖 28 由下而上依序為 a-10 ^{13}C , DEPT-45, DEPT-90, DEPT-135 譜



a-10 的二維光譜中，為了避免 a-10 以外雜質所形成的交叉峰為干擾判讀，皆已手動去除。a-10 COSY 譜如圖 29，交叉峰訊號列表如表 31， δ (6.90,7.09)及 δ (7.34,7.47)分別為苺基上氫原子 H8-H9 及苯基上氫原子 H6-H7 彼此耦合形成的交叉峰，此二組訊號是區別苺基及苯基氫原子訊號差異的關鍵。a-10 NOESY 譜如圖 30，交叉峰列表如表 33，a-10 並非所有碳原子單鍵都可旋轉，C4-C5 間的單鍵是無法旋轉的，因此 H5 及 H5'兩個氫原子在空間中會與不同氫原子產生耦合交叉峰訊號，H5-H6 有交叉峰，H5'-H6 沒有交叉峰，表示 H5 與 H6 空間中距離較近，H5'與 H6 距離較遠，同理，H5'-H_N有交叉峰，但 H5-H_N沒有交叉峰，表示 H5 與 H_N距離較遠，H5'與 H_N距離較近，以此為線索 H5 及 H5'的位置如圖 30 右下角的 Newman projection 所示。

a-10 HSQC 譜如圖 31，交叉峰訊號列表如表 32，從 H5'-C5 及 H5-C5 二交叉峰發現 H5'及 H5 與相同碳原子鍵結，H7-C7、H7-C8、H6-C6 三個訊號可以區別苯基上氫原子與碳原子的鍵結關係，H8-C9、H9-C9、H9-C11 三個訊號可以區別苺基上氫原子與碳原子鍵結關係。a-10 HMBC 譜如圖 32，交叉峰訊號列表如表 34，在 HSQC 中 C7、C8 同時與 H7 產生交叉峰，無法區分 C7、C8 之差異，在 HMBC 中可發現有 H6-C7 訊號但沒有 H6-C8 訊號，藉此判斷 C7 為較接近 H6 之碳原子，C8 為離 H6 較遠之碳原子。

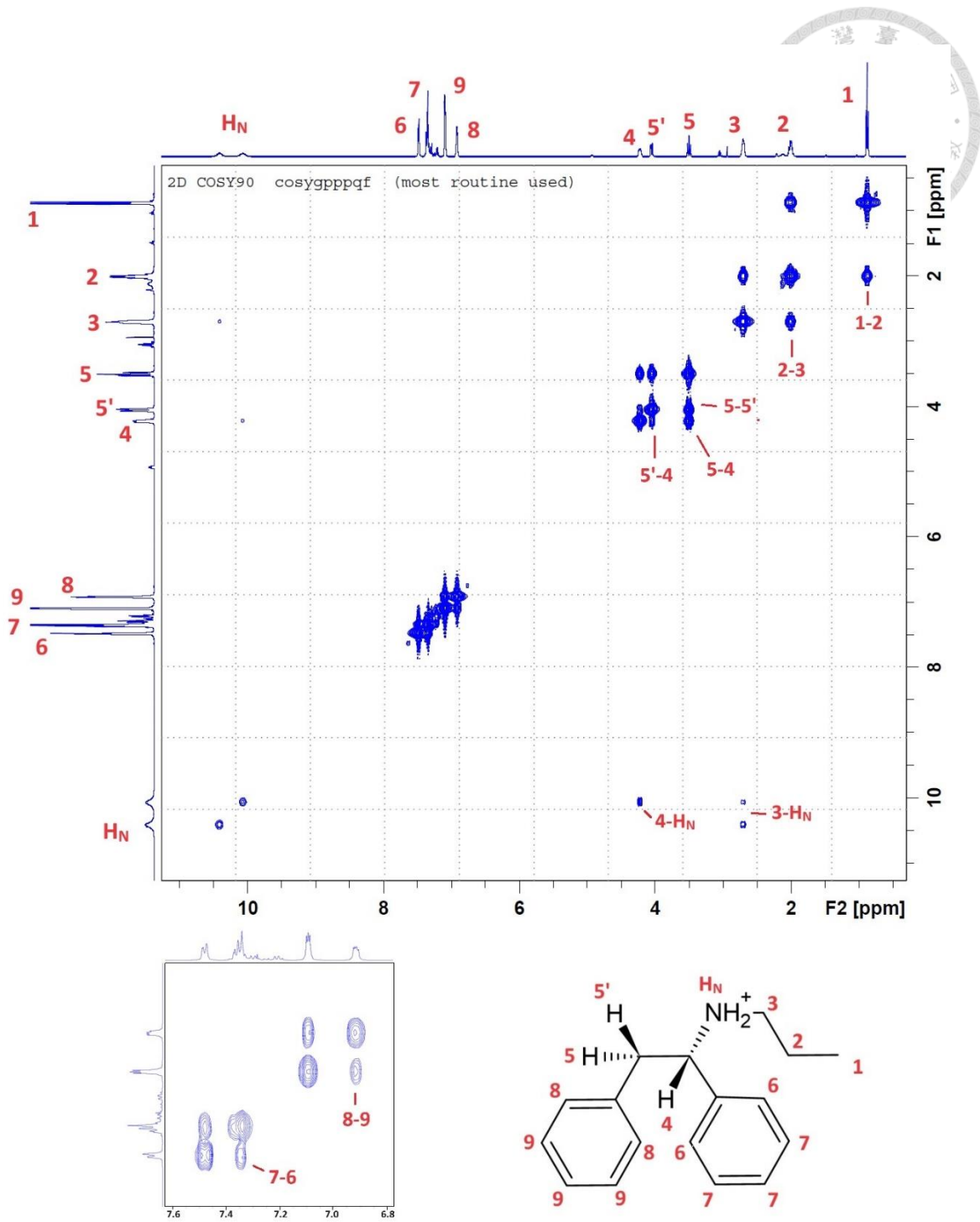


圖 29 a-10 COSY 譜

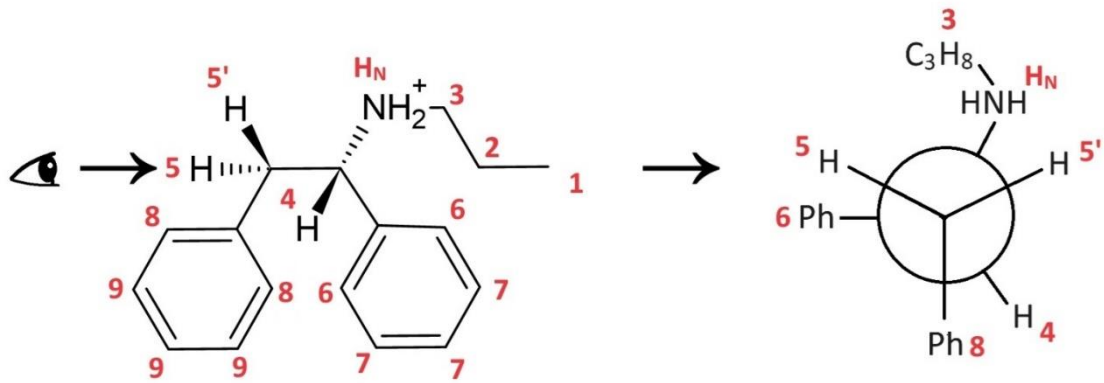
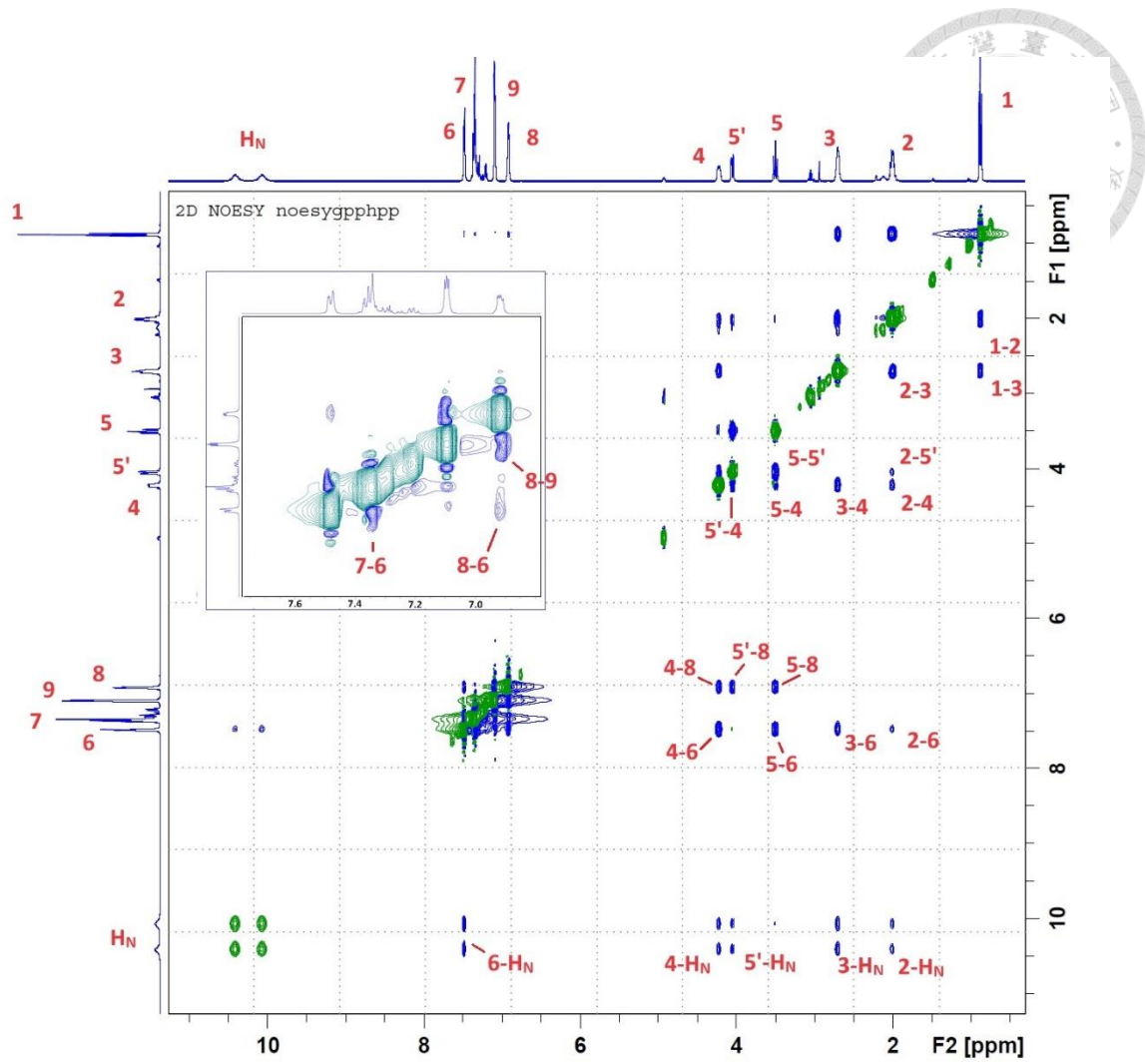


圖 30 a-10 NOESY 譜

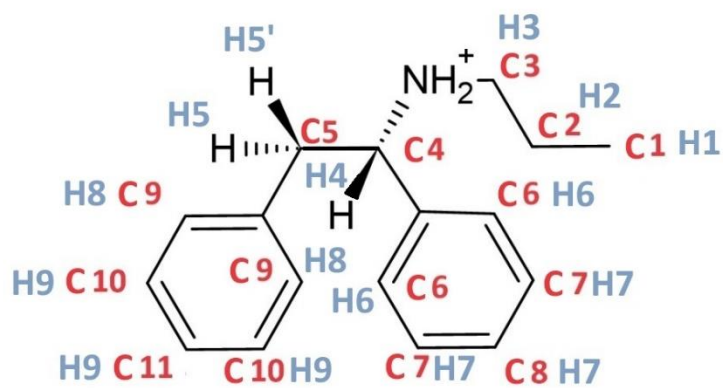
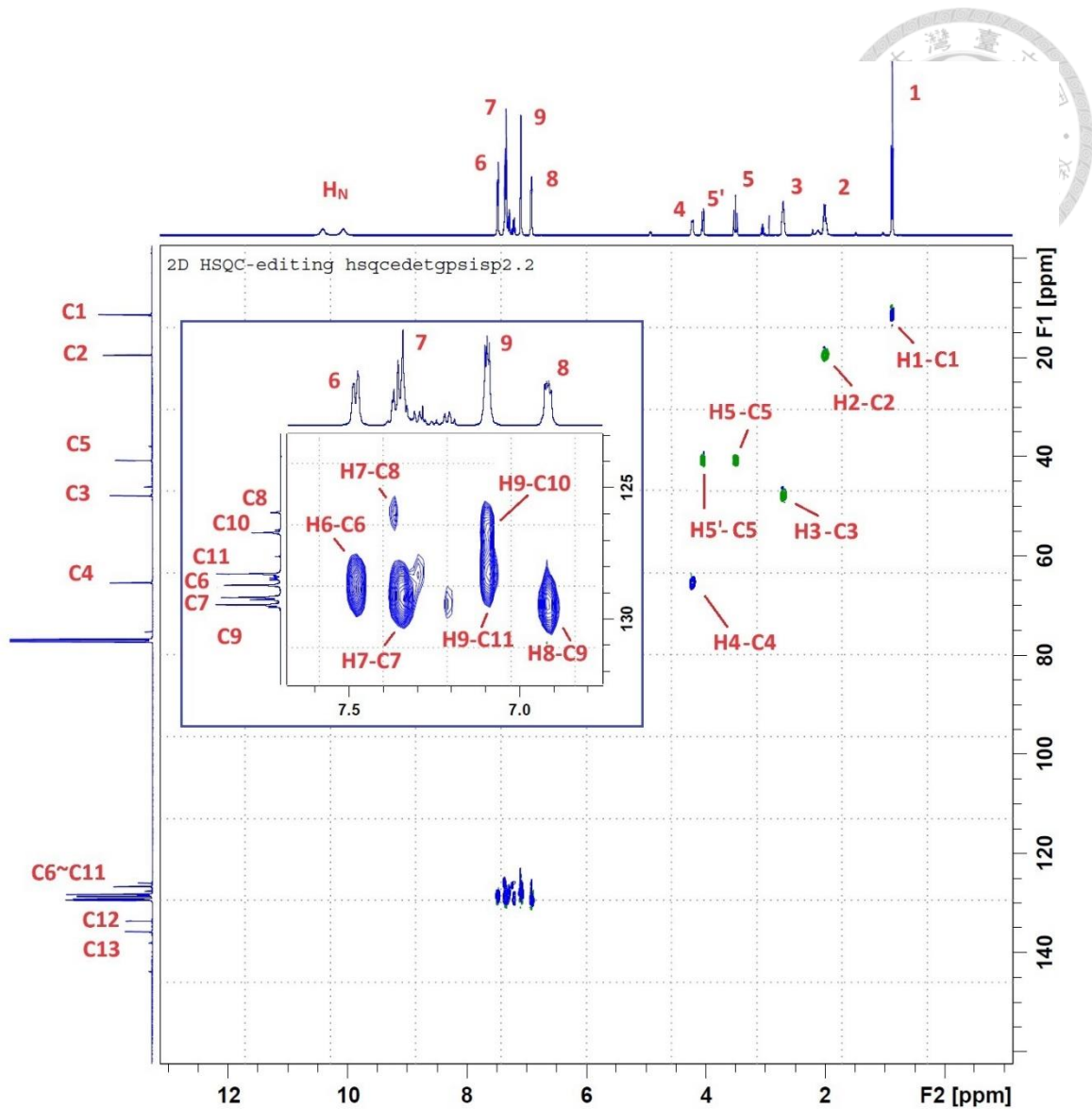


圖 31 a-10 HSQC 譜

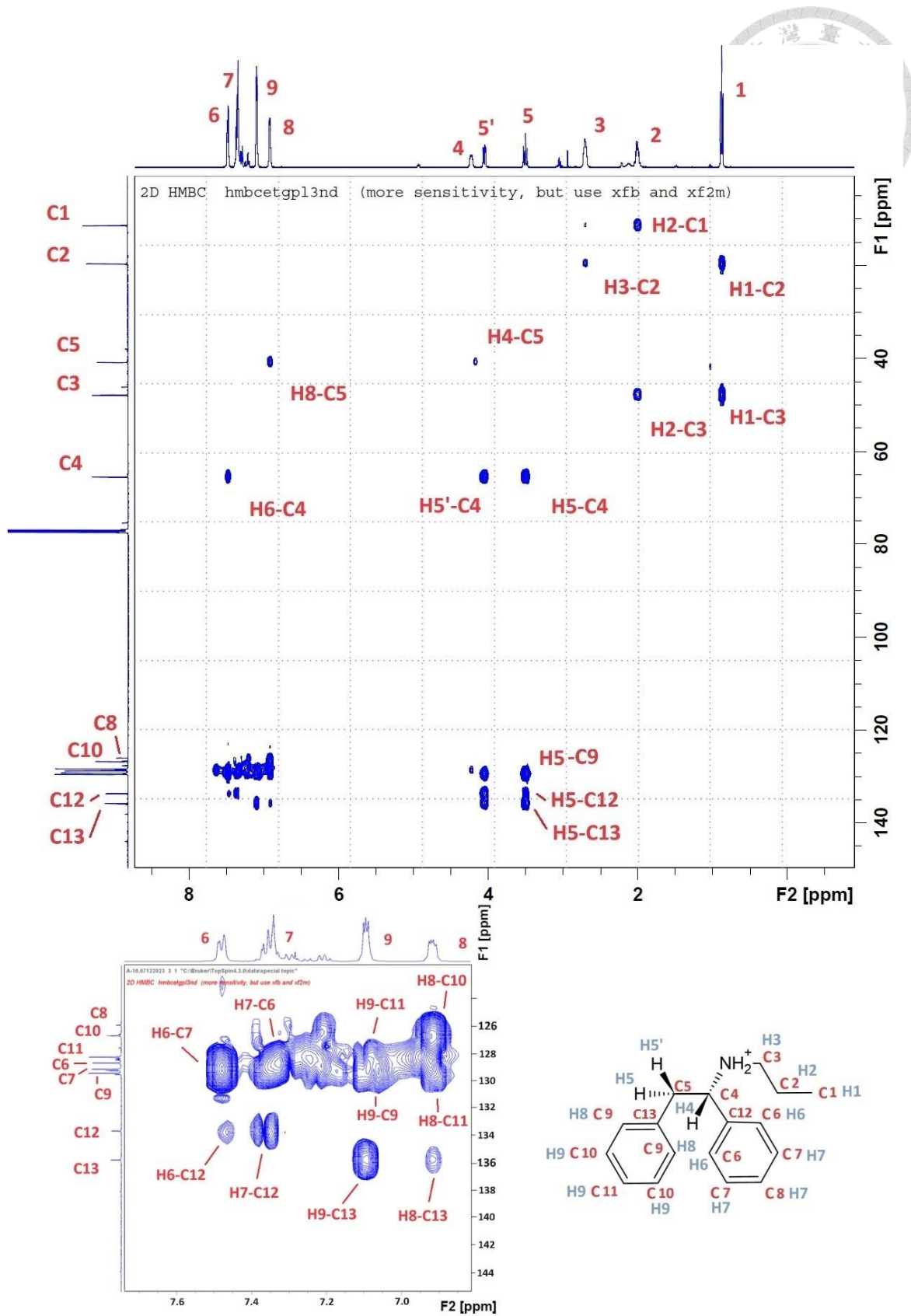


圖 32 a-10 HMBC 譜



2.6.3.3 a-11 核磁共振光譜

a-11 的氫譜如圖 33，使用溶劑為 D₂O，氫原子編號及化學位移關係如表 35，H1 有 $\delta = 0.76$ 及 $\delta = 0.79$ 兩組雙態訊號，此現象可能是吡咯烷基造成空間障礙，造成兩個甲基無法藉 C2-C3 單鍵旋轉交換位置，導致兩個甲基化學環境略有差異因此化學位移有些微差異，H4 及 H5 因吡咯烷在常溫下構型變換較慢，使 H 原子在兩種不同化學環境下變換，因此訊號較寬。

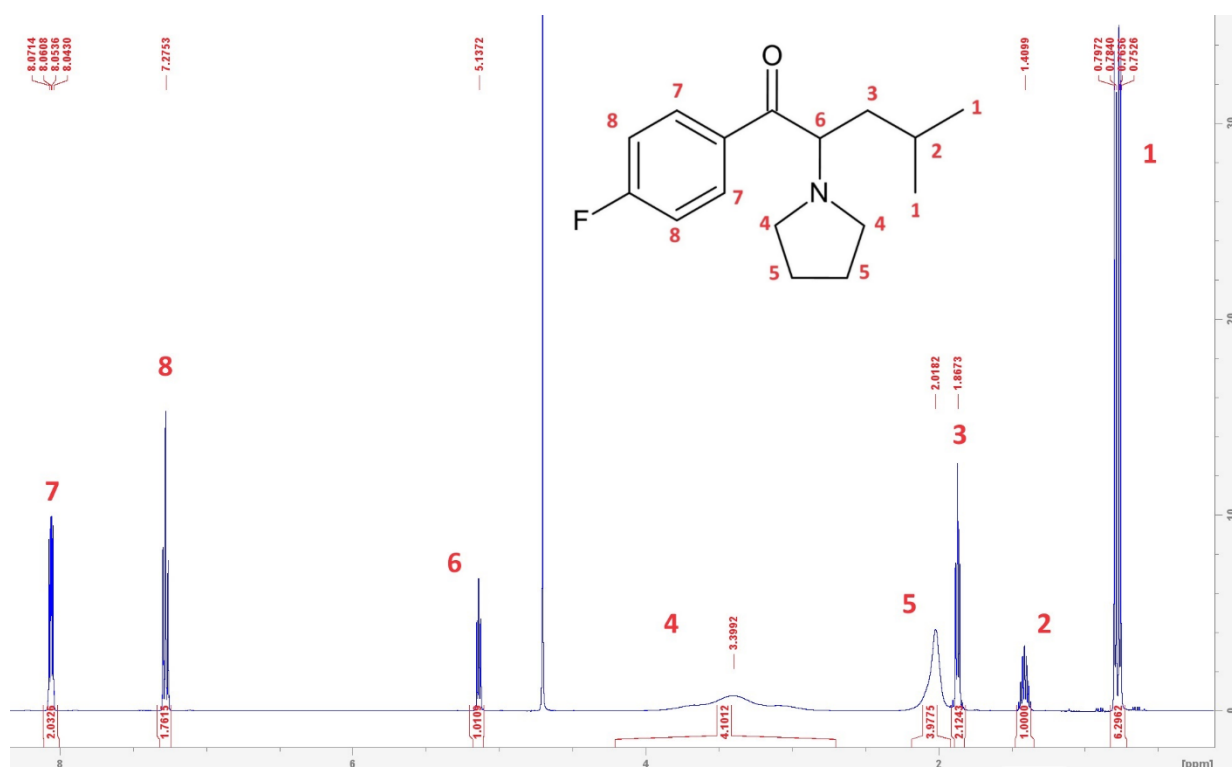


圖 33 a-11 氫譜

a-11 ^{13}C 譜如圖 34，DEPT 譜圖 35，碳原子編號及化學位移關係如表 36，C1 與 H1 相同，因化學環境差異產生兩組訊號，C4 訊號不明顯，C8、C9、C10、C11 與氟原子耦合產生訊號分裂。a-11 ^{19}F 譜如圖 69 於 $\delta = -101.43$ 有一訊號。

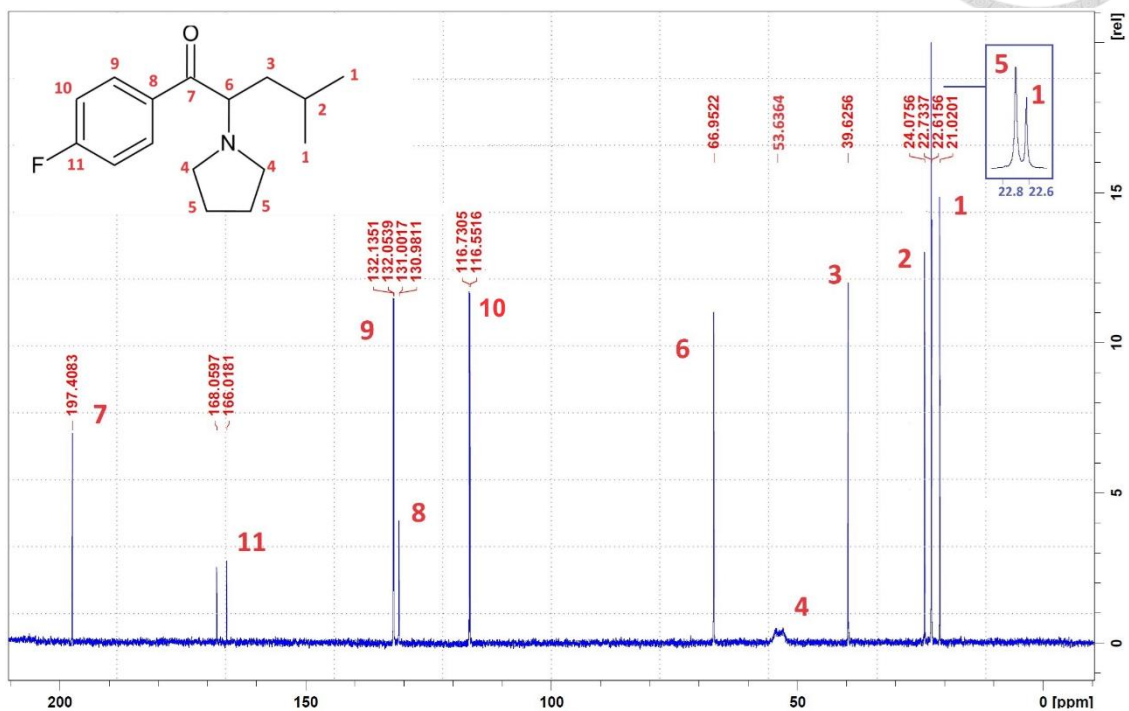


圖 34 a-11 ^{13}C 譜

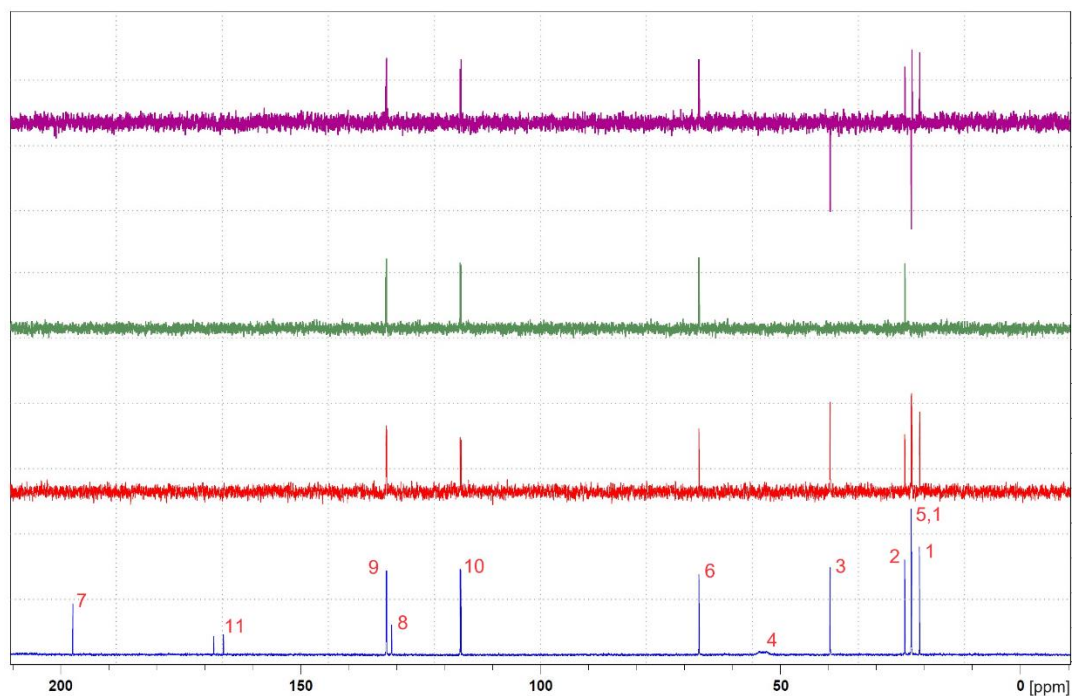


圖 35 由下而上依序為 a-11 ^{13}C , DEPT-45, DEPT-90, DEPT-135 譜

a-11 COSY 如圖 36， $\delta(0.76,1.41)$ 及 $\delta(0.79,1.41)$ 有兩個 H1-H2 交叉峰， $\delta(1.41,1.86)$ 有 H2-H3 交叉峰， $\delta(1.86,5.14)$ 有 H3-H6 交叉峰， $\delta(7.27,8.57)$ 有 H7-H8 交叉峰。a-11 NOESY 如圖 37，交叉峰訊號列表如表 37。H1-H6 交叉峰發現兩個 H1 訊號僅 $\delta = 0.76$ 的 H1 和 H6 有交叉峰，進一步證明兩個 H1 訊號差異係空間障礙所致，H3-H4 及 H6-H4 交叉峰可證明 H4 是吡咯烷基上離胺基較近的氫原子，H6-H7 交叉峰證明 H7 為苯環上近羰基(carbonyl)氫原子。a-11 HSQC 如圖 38，交叉峰列表如表 38，H8-C10 與 H7-C9 兩個交叉峰區別 C9 與 C10 的差異。

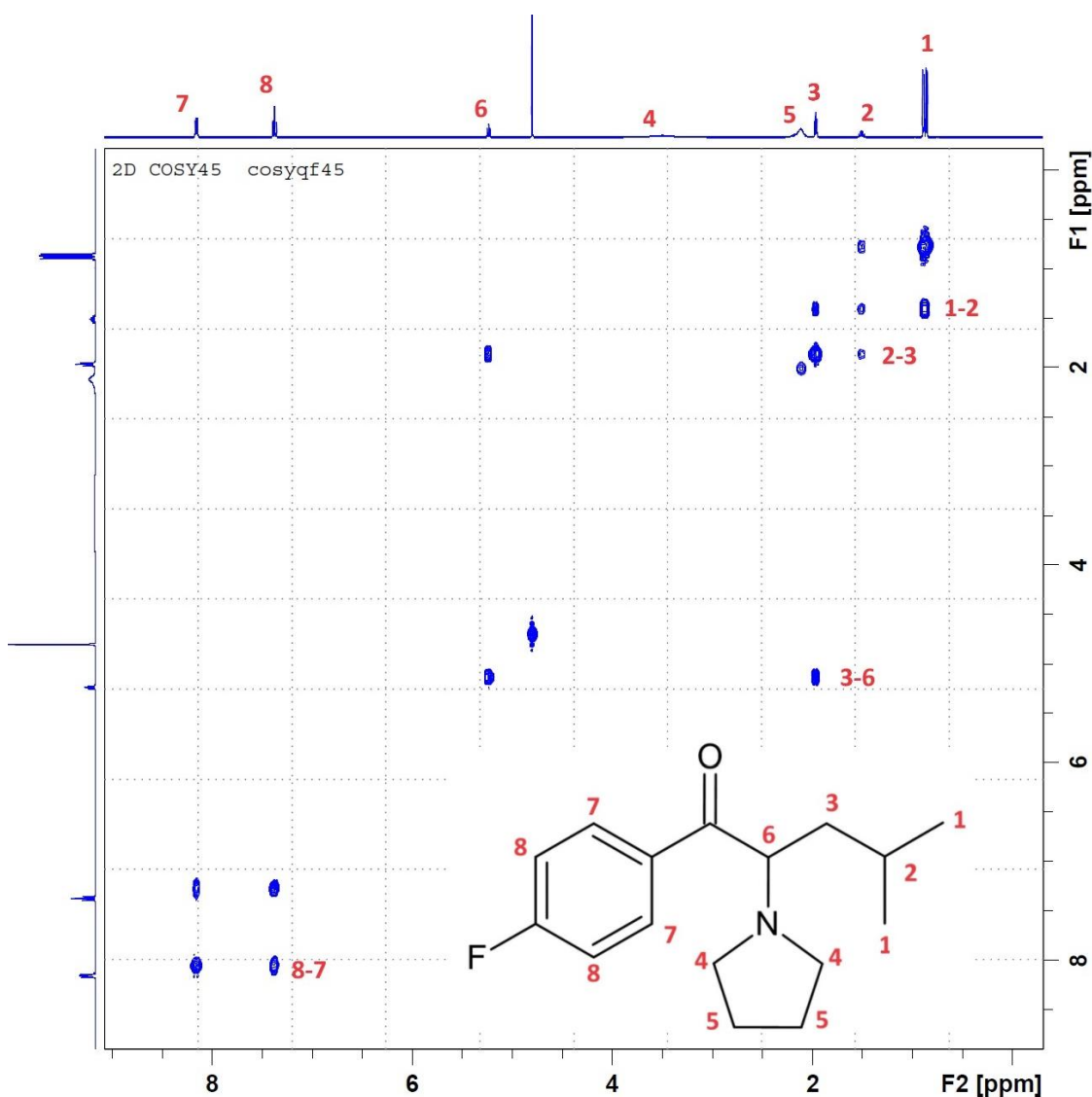


圖 36 a-11 COSY 譜

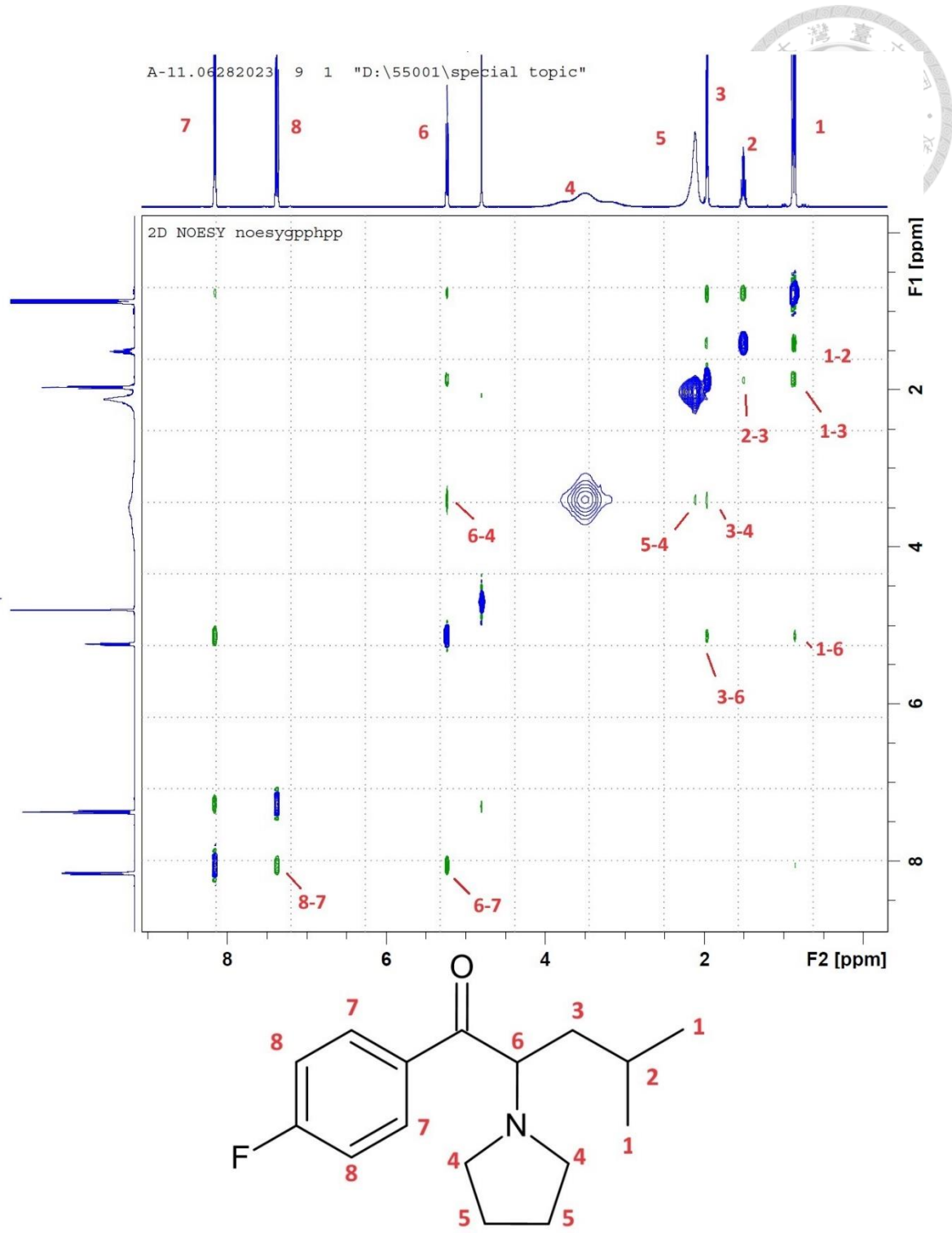


圖 37 a-11 NOESY 譜

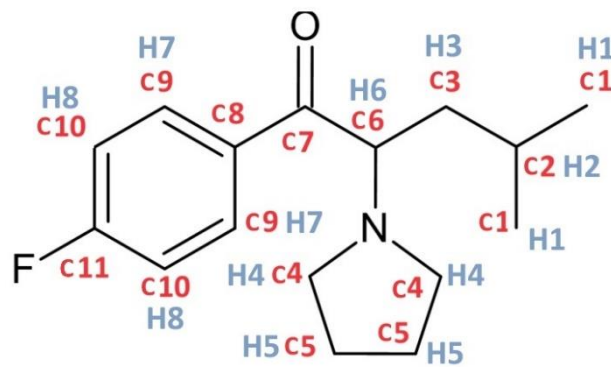
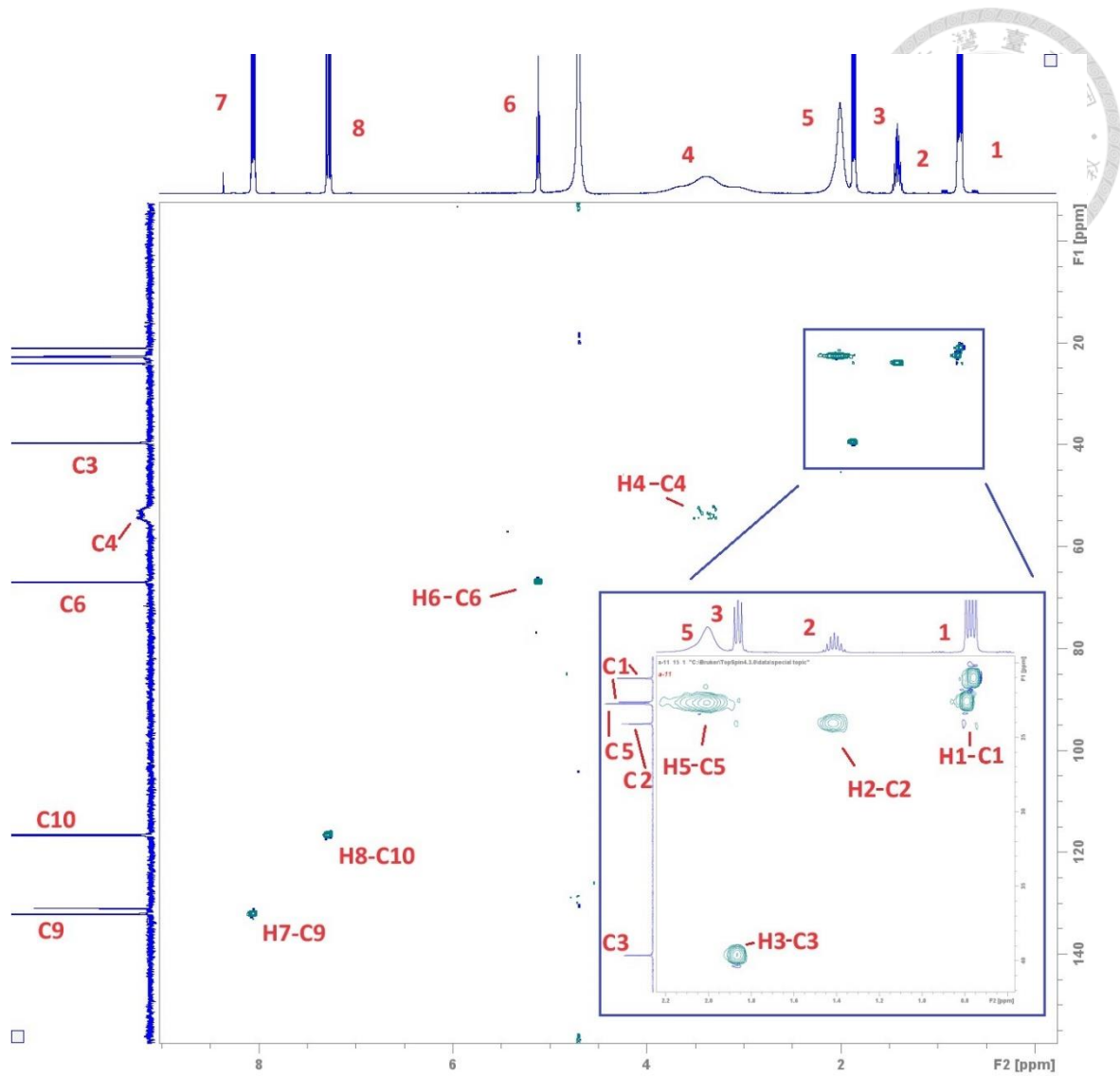


圖 38 a-11 HSQC 譜



第三章 新興精神活性物質代謝物研究

3.1 斑馬魚代謝模型

本研究將斑馬魚飼養於低濃度毒品水溶液中以取得毒品代謝物，此法稱為斑馬魚代謝模型，實驗步驟參考 Prado 等人於 2021 發表之方法[74]，挑選合適年齡以及體長相近之成魚，公、母各四隻，育養於隔離房中，實驗前禁食一天。實驗當日將魚隻轉移至 500 mL 燒杯中，內裝 200 mL 養殖水，並給予毒品，浸泡濃度為 1 ppm，後置於 32°C 培養箱中。浸泡後第 0 至 12 小時，每個小時收取水樣 2 ml，分裝於 2 管 1.5ml 離心管中並保存於 4°C 冰箱中。斑馬魚飼養、藥物浸泡實驗及代謝物樣品採集均委託國家衛生研究院臺灣斑馬魚技術與資源中心操作。

3.2 尋找 a-9、a-10、a-11 代謝物

3.2.1 實驗方法

3.2.1.1 實驗配置

分別準備 a-9、a-10、a-11 的 200 ppm 水溶液並儲存於螺旋試管中並置於冰箱冷藏備用。準備一組實驗組及兩組控制組，實驗組即斑馬魚代謝模型，操作步驟如 3.1 所述，控制組分為正控制組及負控制組兩組，控制組各項變因及採樣方法與實驗組均相同，唯獨正控制組水中沒有斑馬魚，負控制組的水中未加入毒品。採樣水樣編號方式如下：毒品編號-h 採樣時間-組別(實驗組：e，正控制組：c+，負控制組：c-)，例如：a-9-h6-e 為 a-9 實驗組在第六小時採集之水樣。

3.2.1.2 樣品前處理

取實驗組水樣 900 μ L 至於玻璃試管中，另取事先配製濃度為 50 ppb 之咖啡因水溶液 36 μ L 作為內標準品，並取 36 μ L 至於玻璃試管中，之後將試管置於離心式濃縮機(CVE-3110, EYELA)，轉速 3000 rpm，壓力 9 torr，進行乾燥濃縮。待溶劑完全蒸發後，再於試管內加入 180 μ L 之稀釋液回溶，配置成代謝物濃縮五倍，內標準品濃度 10ppb 之樣品溶液，回溶後的溶液以玻璃滴管轉移至加裝注射型過濾

器(0.22 μ m, Global scientific)的塑膠針筒過濾雜質，濾液盛裝於內嵌 250 μ L insert 的 2mL 樣品瓶內，並給予編號，後續以 LC- Orbitrap MS 分析。


3.2.1.3 儀器設定

藥物經過 CYP450 酵素轉化後，可能發生的多種代謝反應(如表 2)，進而產生多種代謝物，本研究目的在於找到新興精神活性物質可用於藥物濫用檢驗的指標代謝物，不需盡可能發掘所有種類的代謝物，同時為了提升質譜監測靈敏度及層析圖的時間解析度，必須將質譜儀所監測的代謝物分子種類鎖定在特定幾個物種。為達到前述目的。分析時 LC- Orbitrap MS 選用在 1.3.2 所提及之 Full MS/dd-MS² 模式，根據文獻資料推測新興精神活性物質的可能主要代謝之分子式，將可能代謝物、新興精神活性物質原態、咖啡因的單一同位素分子量設定於 inclusion list 中，設定代謝物分子量種類不超過 3 種，其餘分析參數同表 5。

3.2.1.4 數據分析

LC-Orbitrap MS 在 Full MS/dd-MS² 模式下得到 TIC，由質量篩選器(filter)篩選 inclusion list 中代謝物及咖啡因的單一同位素分子量，並各別呈現可能代謝物及咖啡因個別層析圖，之後對層析圖中各個訊號峰進行積分，得到各種可能代謝物及咖啡因訊號峰在不同採樣時間點的積分面積，例如圖 70，從上而下依序為 a-10 第 0 小時至第 12 小時的層析圖，左側為篩選器 $m/z = 256.1701$ 的層析圖，可看到此 m/z 下有超過一種的可能代謝物訊號峰，右側為 $m/z = 195.0866$ 的層析圖，為內標準品的訊號峰。將各個可能代謝物訊號峰的積分值除以同樣品中咖啡因的訊號積分值，得到可能該可能代謝物的參考強度比值(reference-intensity ratio, RIR)，RIR 可在缺少標準品進行定量試驗情況下，用於半定量(Semi-quantitative)分析。實驗組每個樣品需以 LC- Orbitrap MS 進行三次重複檢測，並以三次結果得到之 RIR 取平均值進行後續分析。

可能代謝物的 RIR 需要符合三個條件，才能被認定為代謝物：(1) RIR 必須隨抽樣的時間越晚而增加。(2)在正控制組中的 RIR 不能隨抽樣時間越晚而增加。(3)



實驗組的 RIR 和負控制組的 RIR 必須有顯著差異。條件(1)是基於斑馬魚的代謝物在 12 小時內應當會隨時間累積，RIR 應伴隨代謝物累積而上升，條件(2)是為了排除實驗過程中非由斑馬魚代謝而產生類似代謝物的衍生物，條件(3)可排除斑馬魚與藥品無關聯之代謝物。

第一步，將所有可能代謝物的 RIR 對採樣時間作圖並作迴歸線，排除未隨時間顯著增加，迴歸係數小於 < 0.08 ，以及增加趨勢不明確，判定係數 $r^2 < 0.6$ 者。

第二步，找出正控制組中與可能代謝物有相同單一同位素質量及滯留時間的訊號峰，將這些來自正控制組的訊號 RIR 對採樣時間作圖，若在沒有斑馬魚的情況下訊號仍穩定增加，代表該可能代謝物來源除了藥物經過斑馬魚轉化，還有其他來源，不適合當作藥物代謝檢驗的指標代謝物。篩選方法為正控制組訊號峰迴歸係數與可能代謝物之迴歸係數進行單樣本 t-test，t-test 的虛無假設為正控制組訊號 RIR 迴歸係數 = 實驗組可能代謝物 RIR 迴歸係數，若 p 值 < 0.01 ，拒絕虛無假設，代表實驗組與正控制組有顯著差異，該可能代謝物通過第二部篩選。

第三步，找出負控制組中與通過第二步篩選之可能代謝物有相同單一同位素質量及滯留時間的訊號峰，以這些訊號峰相同採樣時間之實驗組為母體，於採樣時間第 0 至第 12 小時依序進行單樣本 t-test，虛無假設為負控制組訊號 RIR = 實驗組 RIR，若 p 值 < 0.01 ，拒絕虛無假設，實驗組與負控制組有顯著差異，所有採樣時間點 t-test 結果皆須有顯著差異，才算通過第三步篩選。通過三步篩選的可能代謝物，可認定該代謝物是藥物經斑馬魚轉化而來，是可用於濫用藥物檢驗之指標代謝物。



3.2.2 a-9 代謝物

3.2.2.1 預測 a-9 可能代謝物

所有苺基哌嗪類毒品中以 1-methyl-4-benzylpiperazine (MBZP) 結構與 a-9 最為相似，可以從 MBZP 已知代謝物類推 a-9 的可能代謝物。已知 CYP450 中有四種酵素會參與 MBZP 的代謝反應，分別為 CYP2D6、CYP1A2、CYP3A4 及 CYP2C9 [82]，這四種酵素可以對受質進行去甲基化及羥基化反應[83-85]，以此推測 a-9 參與的代謝反應與可能代謝物如表 7，將可能代謝物 m/z 輸入到 inclusion list 作為質譜分析目標進行後續分析。

3.2.2.2 a-9 可能代謝物濃度與採樣時間關係

如圖 39，m/z = 195.1292 層析圖在 RT = 1.86 處有一明顯訊號峰，此成分記為 a-9-m1，m/z = 225.1398 層析圖在 RT = 1.92 及 2.03 各有一個訊號峰，此二成分依序標記為 a-9-m2 及 a-9-m3，m/z = 211.1241 無可分析訊號。a-9 三種可能代謝物之 RIR 與採樣時間關係如圖 40，詳細數值如表 39。

代謝反應的基值濃度遠大於酵素及產物濃度，可視為 0 級反應，代謝物濃度應隨採樣時間呈正比成長，將 RIR 對採樣時間做線性迴歸，迴歸係數與判定係數如表 8。a-9-m2 與採樣時間有正相關，但迴歸係數小於 0.08，且判定係數小於 0.6，不符合 3.2.1.4 條件(1)的判斷標準，排除 a-9-m2。a-9-m1 與 a-9-m3 迴歸係數均大於標準，且判定係數均大於 0.6，兩代謝物通過篩選進入與控制組比對步驟。

表 7 a-9 可能代謝物

分子式	單一同位素質量	氫離子化分子式	氫離子化 m/z	代謝反應
C ₁₂ H ₁₇ FN ₂	208.1376	C ₁₂ H ₁₈ FN ₂ ⁺	209.1449	原態
C ₁₁ H ₁₅ FN ₂	194.1219	C ₁₁ H ₁₆ FN ₂ ⁺	195.1292	去甲基
C ₁₁ H ₁₅ FN ₂ O	210.1168	C ₁₁ H ₁₆ FN ₂ O ⁺	211.1241	去甲基+羥基化
C ₁₂ H ₁₇ FN ₂ O	224.1325	C ₁₂ H ₁₈ FN ₂ O ⁺	225.1398	羥基化

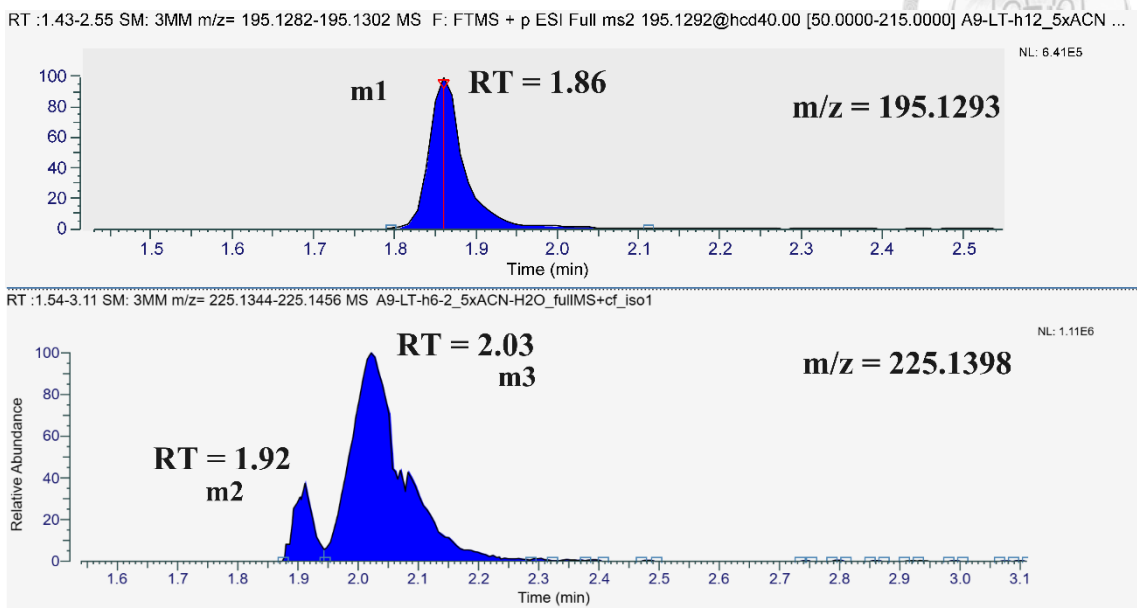


圖 39 a-9 可能代謝物層析圖(上圖取自樣品 a9-h12-e，下圖取自 a-9-h6-e)

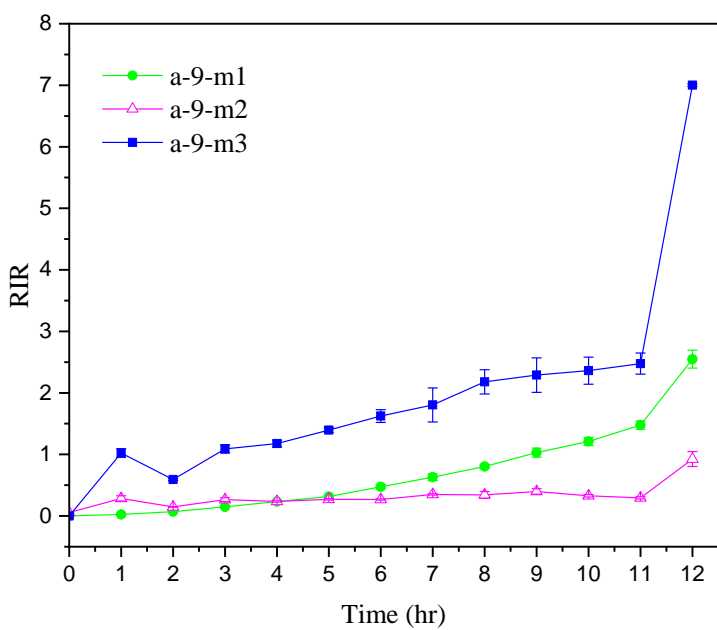


圖 40 a-9 可能代謝物與採樣時間關係圖(圖中誤差線為 1 倍標準差)

表 8 a-9 可能代謝物迴歸線參數(紅字為不符合判定標準之數值)

編號(a-9-)	m1	m2	m3
迴歸係數(1/hr)	0.1715	0.0367	0.3427
判定係數 r^2	0.8275	0.4982	0.6213



3.2.2.3 a-9 可能代謝物與正控制組比對

正控制組在各採樣時間點， $m/z = 195.1293$ 皆無可分析之訊號峰， $m/z = 195.1293$ 的 a-9-m1 通過與正控制組之比對。正控制組在 $m/z = 225.1398$ ，於 $RT = 1.94$ 有訊號峰，與 a-9-m3 的 m/z 相同但 $RT = 2.03$ 有差異，為求謹慎還是進行比對，這組訊號峰標記為 a-9-m3-c+，訊號峰的 RIR 隨採樣時間變化關係如圖 41，詳細數值如表 40。

從圖 41 可看出，a-9-m3 RIR 明顯高於 a-9-m3-c+ RIR，正控制組 a-9-m3-c+ RIR 隨採樣時間變化的迴歸係數為 0.004，判定係數 r^2 為 0.3427，明顯與採樣時間沒有正相關，兩者進行 t-test 得到 p 值為 0.0007，有顯著差異，可認定 a-9-m3-c+ 與 a-9-m3 兩者為不同分子，證明 a-9-m3 是經過斑馬魚產生之代謝物，a-9-m3 通過正控制組比對。推測正控制組 a-9-m3-c+ 訊號來源可能為 a-9 樣品內微量雜質，其分子式與 a-9-m3 相同但結構不同，非生物體代謝物。

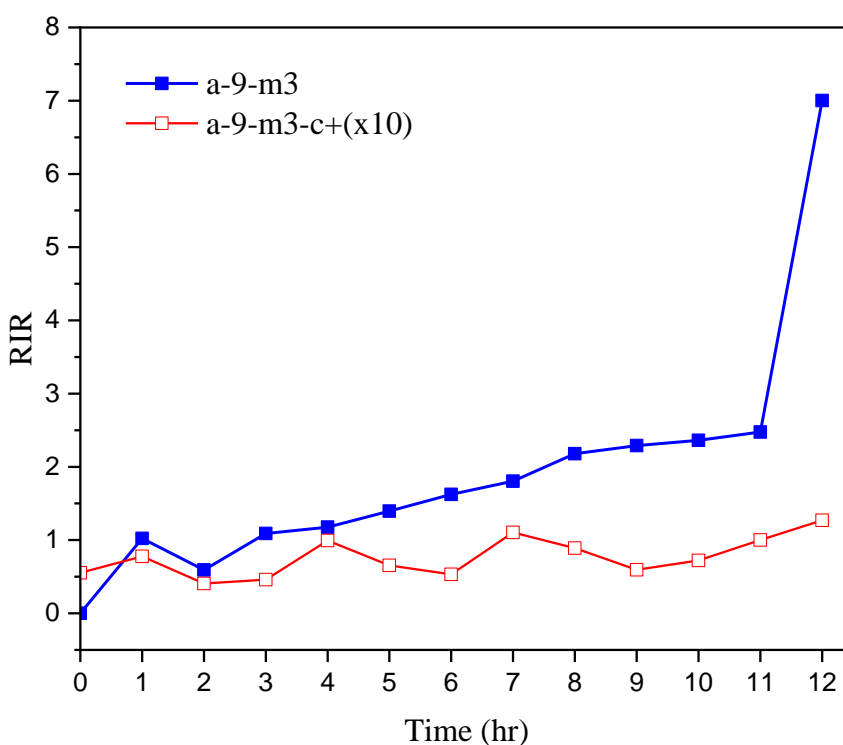


圖 41 a-9 正控制組 a-9-m3-c+與實驗組 a-9-m3 RIR 採樣時間關係圖

3.2.2.4 a-9 可能代謝物與負控制組比對

負控制組在各採樣時間點，於 $m/z = 195.1293, 225.1398$ 均無可分析訊號峰，斑馬魚不會產生與 a-9 無關，干擾 a-9-m1 與 a-9-m3 檢測結果的代謝物。綜合三步篩選結果，證明 a-9-m1 與 a-9-m3 是 a-9 可用於濫用藥物檢驗的代謝物。



3.2.3 a-10 代謝物

3.2.3.1 預測 a-10 可能代謝物

合成迷幻藥類毒品中，勒非他命結構與 a-10 相似，可從勒非他命已知代謝物推測 a-10 可能代謝物。勒非他命結構如圖 2，涉及代謝反應包括 N-甲基去甲基化、羥基化、N-羥基化、甲氧基化[38]，推測 a-10 可能產生代謝物如表 9，將其氫離子化 m/z 輸入到 inclusion list 作為質譜分析目標進行後續分析。

表 9 a-10 可能代謝物

分子式	單一同位素質量	氫離子化分子式	氫離子化 m/z	代謝反應
C ₁₇ H ₂₁ N	239.1674	C ₁₇ H ₂₂ N ⁺	240.1747	原態
C ₁₄ H ₁₅ N	197.1205	C ₁₄ H ₁₆ N ⁺	198.1277	去丙基
C ₁₇ H ₂₁ NO	255.1623	C ₁₇ H ₂₂ NO ⁺	256.1696	羥基化
C ₁₈ H ₂₃ NO	269.1780	C ₁₈ H ₂₄ NO ⁺	270.1852	甲氧基化

3.2.3.2 a-10 可能代謝物與採樣時間關係

如圖 42，m/z = 198.1277 層析圖 RT = 7.13, 7.79 各有一明顯訊號峰，此二成分分別記為 a-10-m1、a-10-m2，m/z = 256.1696 層析圖 RT = 7.79, 7.90, 8.00, 8.08, 8.22, 8.31 各有一訊號峰，此六成分依序記為 a-10-m3 至 a-10-m8，m/z = 270.1852 無可分析訊號。a-10 八種可能代謝物之 RIR 與採樣時間關係如圖 43，詳細數值如表 41。

代謝物濃度應隨採樣時間稱增加，將 RIR 對採樣時間做線性迴歸，得到可能代謝物與採樣時間關係的判定係數 r^2 ，迴歸係數如表 10。a-10-m1、a-10-m5、a-10-m8 迴歸係數小於 0.08，a-10-m1、a-10-m7 判定係數小於 0.6 之標準，這四項可能代謝物皆不適合做為 a-10 的指標代謝物。其餘可能代謝物均符合判定標準，a-10-m2、a-10-m3、a-10-m4、a-10-m6 進入與控制組比對步驟。

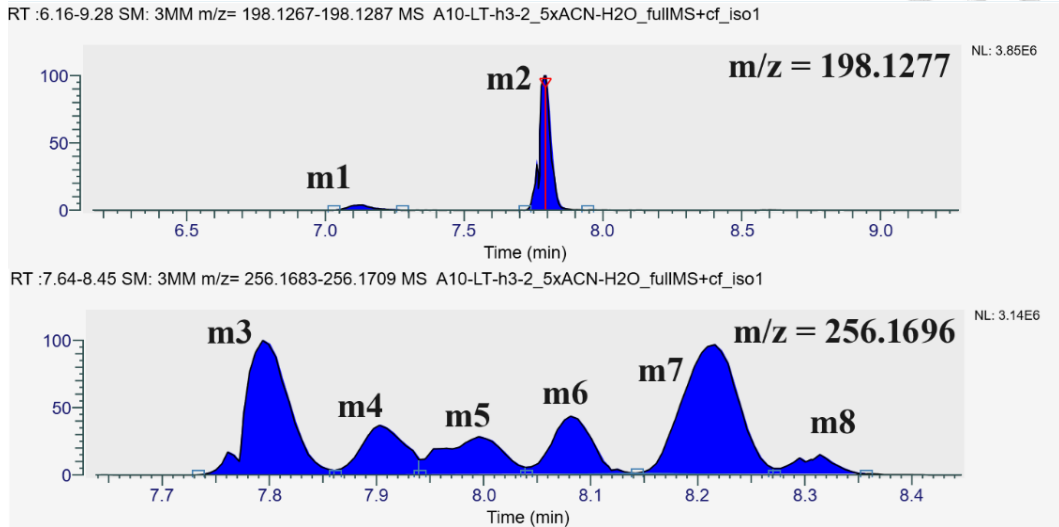


圖 42 a-10 可能代謝物層析圖(圖取自樣品 a-10-h3-e)

表 10 a-10 可能代謝物迴歸線參數(紅字為不符合判定標準之數值)

編號(a-10-)	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8
迴歸係數(1/hr)	-0.0017	0.8575	0.6902	0.1010	0.0776	0.2641	0.1201	0.0255
判定係數 r^2	0.0067	0.9945	0.9979	0.8839	0.8163	0.9951	0.3747	0.6370

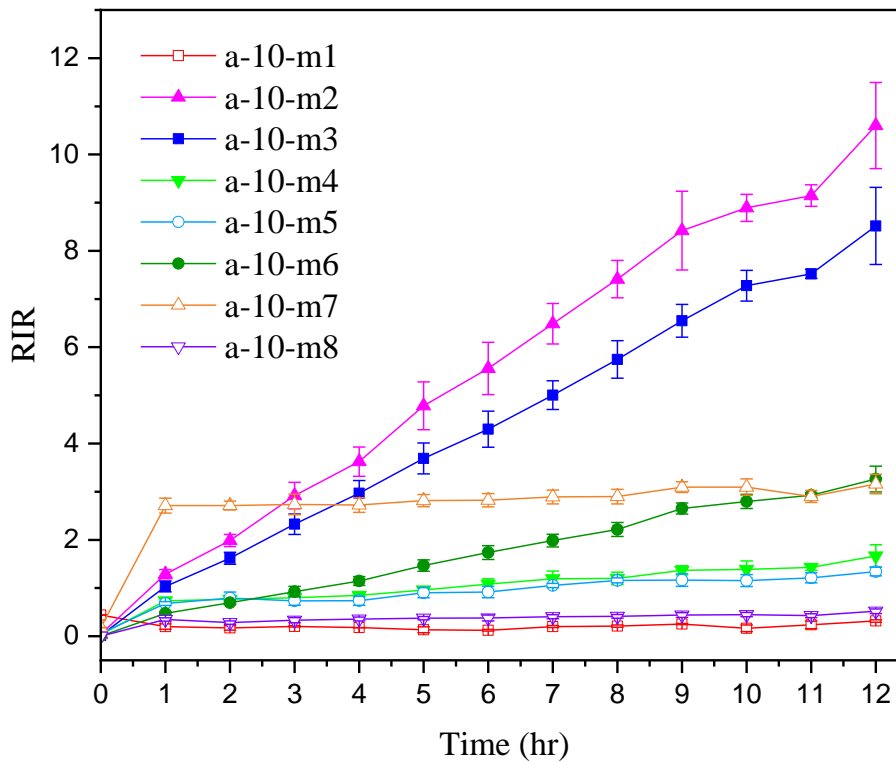
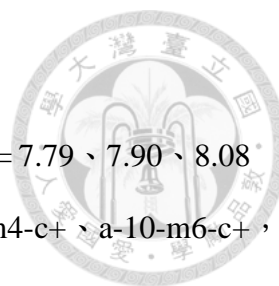


圖 43 a-10 可能代謝物 RIR 與採樣時間關係圖(圖中誤差線為 1 倍標準差)



3.2.3.3 a-10 可能代謝物與正控制組比對

正控制組 $m/z = 198.1277$ 在 $RT = 7.79$ ， $m/z = 225.1696$ 在 $RT = 7.79$ 、 7.90 、 8.08 共有四組訊號峰，依序標記為 a-10-m2-c+、a-10-m3-c+、a-10-m4-c+、a-10-m6-c+，此四組訊號峰 RIR 與時間關係如圖 44，詳細數值如表 42，所得迴歸係數、判定係數、與 a-10-m2、a-10-m3、a-10-m4、a-10-m6 進行單樣本 t-test 的結果如表 11，比對結果四組訊號 p 值均小於判斷標準，有顯著差異，a-10-m2、a-10-m3、a-10-m4、a-10-m6 均通過與正控制組的比對。

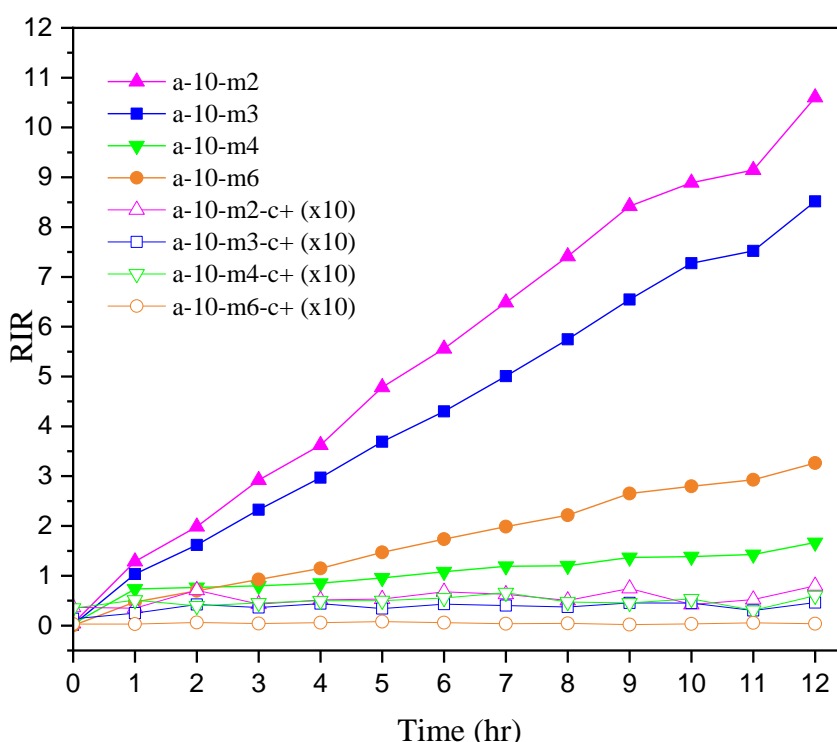


圖 44 a-10 正控制組訊號 RIR 與採樣時間關係圖

表 11 a-10 正控制組訊號迴歸參數及 t-test 結果

訊號	a-10-m2-c+	a-10-m3-c+	a-10-m4-c+	a-10-m6-c+
迴歸係數(1/hr)	0.0018	0.0013	0.0006	-4.2×10^{-5}
判定係數 r^2	0.2365	0.3205	0.0641	0.0095
t-test 母體	a-10-m2	a-10-m3	a-10-m4	a-10-m6
p 值	0.0010	0.0010	0.0080	0.0011



3.2.3.4 a-10 可能代謝物與負控制組比對

負控制組在 $m/z = 198.1277$ ，於各採樣時間點均無可分析訊號峰，a-10-m2 通過與負控制組之比對。 $m/z = 256.1696$ ，在採樣時間為第 0、1、2、5、6、8、11、12 小時於 $RT = 8.13$ 有訊號峰，此訊號峰與 a-10-m6 的 $RT = 8.08$ 較為接近，此訊號峰記為 a-10-m6-c-，將負控制組此八點 RIR 與 a-10-m6 相同採樣時間點之 RIR 進行 t-test，結果如表 12，負控制於所有採樣時間點皆與實驗組皆有顯著差異，a-10-m6 通過篩選。綜合三步篩選結果，證明 a-10-m2、a-10-m3、a-10-m4 及 a-10-m6 是 a-10 可用於濫用藥物檢驗的代謝物。

表 12 負控制組 a-10-m6-c- RIR 及 t-test 結果

採樣時間(hr)	0	1	2	5	6	8	11	12
a-10-m6-c- RIR	0.0097	0.0092	0.0038	0.0021	0.0014	0.006	0.0017	0.0070
a-10-m6 RIR	0.0031	0.4727	0.6974	1.4688	1.7367	2.2159	2.9259	3.2638
p 值	0.0003	0.0030	0.0018	0.0032	0.0035	0.0021	0.0002	0.0034



3.2.4 a-11 代謝物

3.2.4.1 預測 a-11 可能代謝物

根據文獻，卡西酮類毒品主要代謝路徑包含 β -酮基還原、羥化、羥基去氫、羥基氧化[86]，化合物 a-11 與 4Cl-PVP 結構類似，根據 4Cl-PVP 已知代謝物[87] 可推測 a-11 可能代謝物單一同位素質量如表 13。將其 m/z 輸入到 inclusion list 作為質譜分析目標進行後續分析。

表 13 a-11 可能代謝物

分子式	單一同位素質量	氫離子化分子式	氫離子化 m/z	代謝反應
C ₁₆ H ₂₂ FNO	263.1685	C ₁₆ H ₂₃ FNO ⁺	264.1758	原態
C ₁₆ H ₂₄ FNO	265.1842	C ₁₆ H ₂₄ FNO ⁺	266.1914	β -酮基還原
C ₁₆ H ₂₂ FNO ₂	279.1635	C ₁₆ H ₂₃ FNO ₂ ⁺	280.1707	羥基化
C ₁₆ H ₂₄ FNO ₂	281.1791	C ₁₆ H ₂₅ FNO ₂ ⁺	282.1863	β -酮基還原+ 羥基化

3.2.4.2 a-11 可能代謝物隨採樣時間變化

如圖 45，m/z = 280.1707 層析圖在 RT = 6.21, 7.78, 7.97, 8.53, 9.88 各有一明顯訊號峰，此五成分分別記為 a-11-m1、a-10-m2、a-10-m3、a-10-m4、a-10-m5，m/z = 282.1864 層析圖在 RT = 8.00 有一訊號峰，此成分記為 a-11-m6，m/z = 266.1914 無訊號。a-11 六種可能代謝物之 RIR 與採樣時間關係如圖 46、圖 47，詳細數值如表 43。

代謝物濃度應隨採樣時間稱增加，將 a-11 六種可能代謝物的 RIR 對採樣時間做線性迴歸，得到可能代謝物與採樣時間關係的迴歸係數、判定係數 r^2 如表 14。a-11-m1、a-11-m3、a-11-m4、a-11-m5 迴歸係數均小於 0.08，a-11-m4 判定係數小於 0.6，這四項可能代謝物均不適合做為 a-11 的指標代謝物。其餘二個可能代謝物均符合判定標準，a-11-m2、a-11-m6 進入與控制組比對步驟。

表 14 a-11 可能代謝物迴歸線參數(紅字為不符合判定標準之數值)

編號(a-11-)	m1	m2	m3	m4	m5	m6
迴歸係數(1/hr)	0.0680	0.1134	0.0298	0.0042	0.0109	1.0738
判定係數 r^2	0.9802	0.8830	0.8909	0.3997	0.8860	0.9785

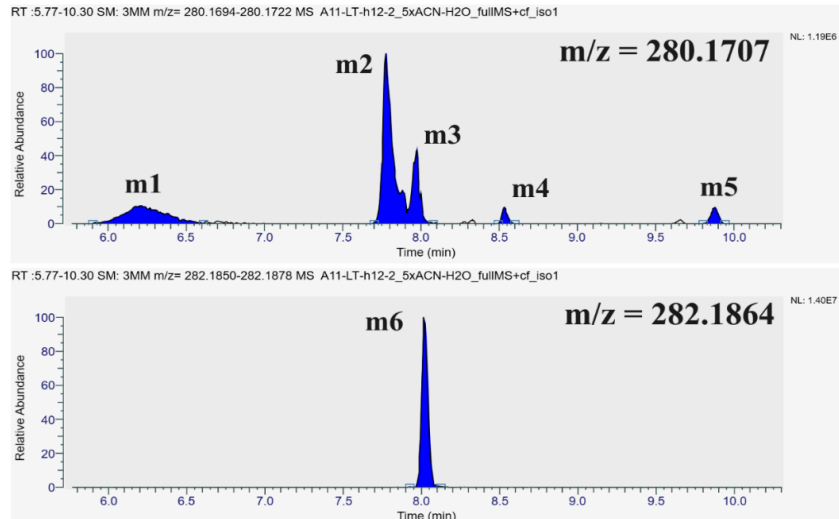


圖 45 a-11 可能代謝物層析圖(圖取自樣品 a-11-h12-e)

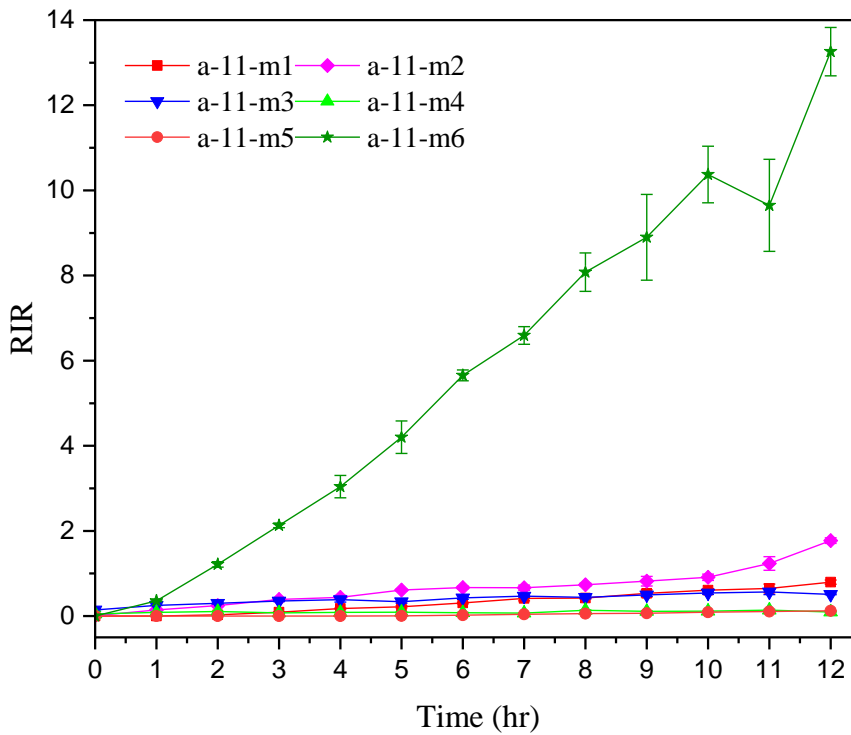


圖 46 a-11 可能代謝物 RIR 與採樣時間關係圖(1)(圖中誤差線為 1 倍標準差)

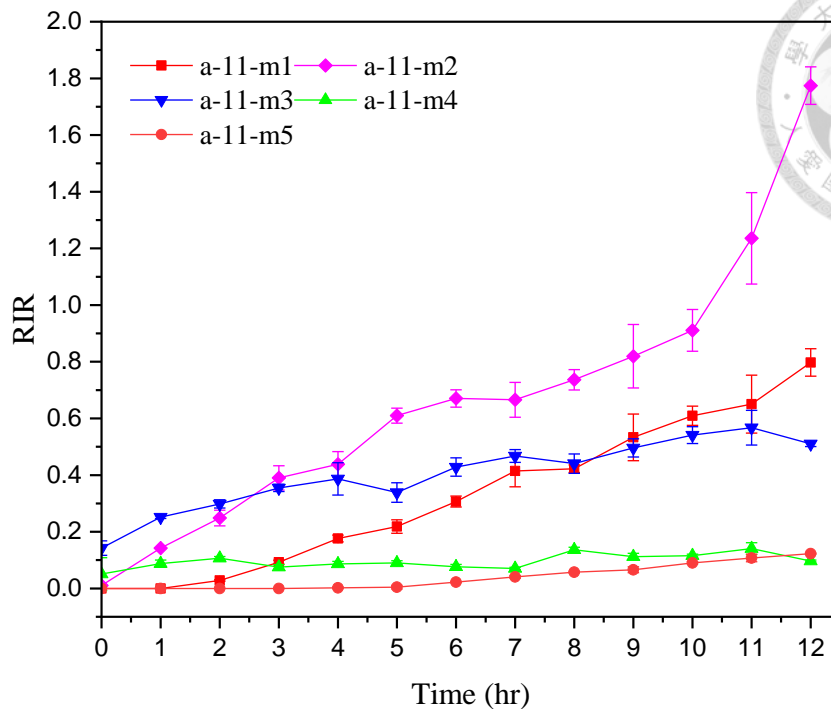


圖 47 a-11 可能代謝物 RIR 與採樣時間關係圖(2)(圖中誤差線為 1 倍標準差)

3.2.4.3 a-11 可能代謝物與正控制組比對

正控制組 $m/z = 282.1864$ 無可比對之訊號峰，m-11-m6 通過比對。 $m/z = 280.1707$ ， $RT = 7.79$ ，訊號峰標記為 a-11-m2-c+，其 RIR 與採樣時間關係如圖 48，詳細數值如表 44，所得迴歸係數 0.0002、判定係數 0.0208，與 a-11-m2 迴歸係數進行 t-test，所得 p 值為 0.0040，有顯著差異，a-11-m2 通過比對。

3.2.4.4 a-11 可能代謝物與負控制組比對

負控制組 $m/z = 282.1864$ 無可比對之訊號峰，m-11-m6 通過比對。在採樣時間為第 3、6、7、8 小時有 $m/z = 280.1707$ ， $RT = 7.95$ 訊號峰，與 a-11-m2， $RT = 7.79$ 接近，此訊號標記為 a-11-m2-c-，將負控制組此四點 RIR 與實驗組 a-11-m2 相同採樣時間點之 RIR 進行 t-test，結果如表 15，負控制於在四個採樣時間點皆與實驗組有顯著差異。綜合三步篩選結果，證明 a-11-m2、a-11-m6 是 a-11 可用於濫用藥物檢驗的代謝物。

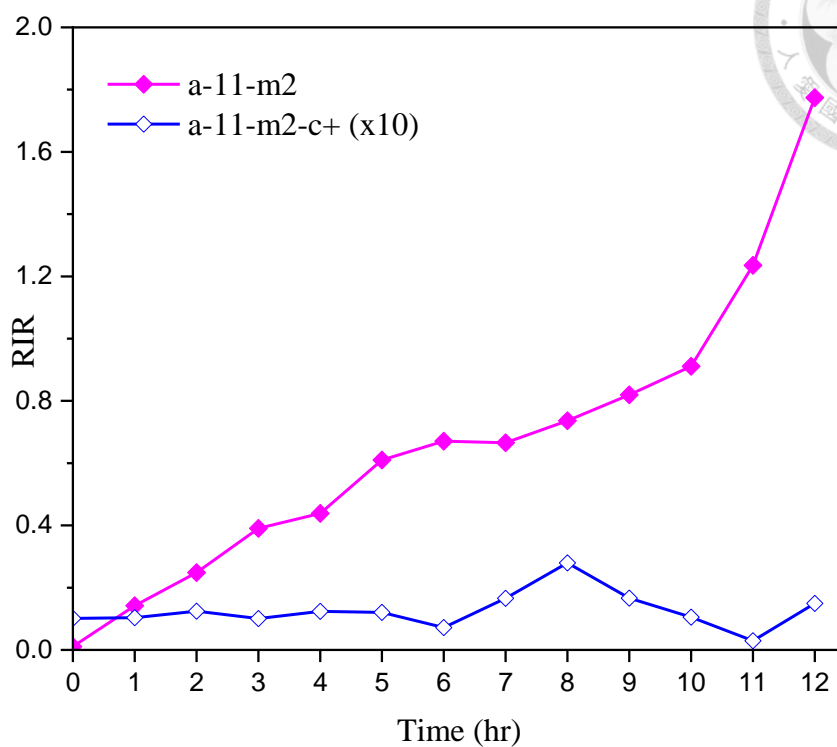


圖 48 a-11 正控制組 a-11-m2-c+、實驗組 a-11-m2 採樣時間關係圖

表 15 負控制組 a-11-m2-c- RIR 及 t-test 結果

採樣時間(hr)	3	6	7	8
負控制組 RIR	0.0097	0.0092	0.0038	0.0021
a-11-m2 RIR	0.3903	0.6704	0.6658	0.7364
p 值	0.0062	0.0011	0.0043	0.0012



3.3 a-9、a-10、a-11 代謝物結構分析

從代謝物二次質譜的子離子單一同位素質量，可用以推測代謝物分子結構。使用 Full MS/ddMS² 模式能得到二次質譜，但在 Full MS 階段，掃描母離子占用了 Orbitrap 大部分的工作時間，導致 ddMS² 階段 Orbitrap 只能對子離子進行較少次數的掃描，造成一種代謝物在 Full MS/ddMS² 模式下，通常只能得到一張二次質譜。當代謝物濃度高時，二次質譜的數量對推測分子結構並無影響，但是低濃度情況下，子離子訊號強度較低時，來自背景值的離子就會干擾二次質譜的判讀，需要多張二次質譜才能排除二次質譜中的背景離子。基於上述原因，進行代謝物分子結構分析時，LC-Orbitrap MS 採用 PRM 模式，分析參數如表 16，此模式必須輸入 inclusion list 鎖定特定母離子，母離子進入碰撞室後產生二次質譜，以圖 49 為例，PRM 模式所得訊號峰是由多張二次質譜組成，每個棍狀訊號都是一張質譜（如圖 49 右圖），不同 RT 下的二次質譜訊號強度有強弱差異，但子離子彼此間訊號強度比例應維持固定，二次質譜中未呈現固定比例的離子可視為源於背景值之離子，應從二次質譜中排除，二次質譜數量越多便可以更準確地排除背景值離子，得到「乾淨」的二次質譜，正確地判別代謝物分子結構。

表 16 Orbitrap LC-MS 分析參數

Orbitrap MS 參數			
離子源	Atmospheric pressure ionization	Normalized Collision Energy	20, 40, 60 eV(Step)
Isolation window	1.0 m/z	偵測範圍	Inclusion list
		掃描速率	9.46 Hz
Resolution	17,500	取樣模式	PRM

分析代謝物的二次質譜方法如下，選擇所有組成代謝物訊號峰的二次質譜中，訊號最強者為第一張質譜，並朝層析圖 RT 減少方向(即訊號峰左側)，依序選擇訊號強度第二至第五張二次質譜，以這五張二次質譜篩選子離子。篩選子離子時，首先排除第一張質譜中訊號強度不足最強子離子千分之二者，之後以第一張質譜中未被排除之離子為基準，計算這些離子在全部五張二次質譜中訊號強度比例，接著，為了比較子離子強度比例在五張二次質譜間的差異，計算這些子離子訊號強度比例的標準差，排除標準差大於 0.45 及在五張二次質譜中出現次數僅一次之子離子，最後以通過篩選的子離子判斷代謝物分子結構。

a-9-m1 子離子如表 45，子離子結構如表 17， $C_{11}H_{16}FN_2^+$ ($m/z = 195.1293$)是母離子，為 a-9 去甲基化之代謝物， $C_7H_6F^+$ ($m/z = 109.0452$)是訊號強度最強的子離子，因共振結構(如圖 50)而比大部分子離子更能穩定存在， $C_4H_9N_2^+$ ($m/z = 85.0766$)是吡嗪衍生離子，訊號強度排名第三， $C_4H_9N_2^+$ 的存在證明原本 a-9 的 N-甲基吡嗪官能基經過代謝轉化成 a-9-m1 後已去甲基化。

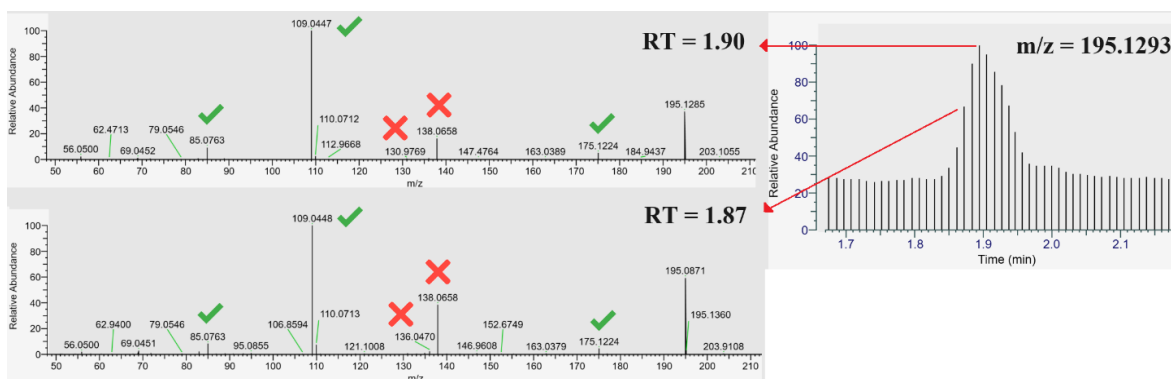


圖 49 PRM 模式以質譜取得子離子示意圖(圖中打叉為背景離子，打勾為子離子)

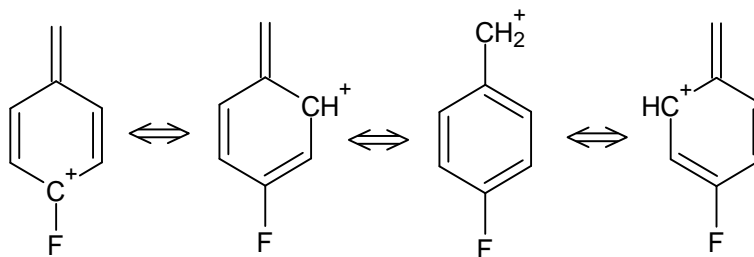
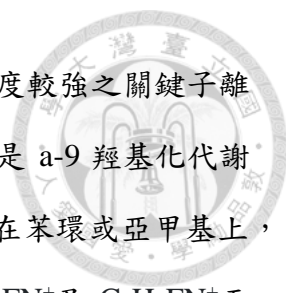


圖 50 $C_7H_6F^+$ 子離子共振結構



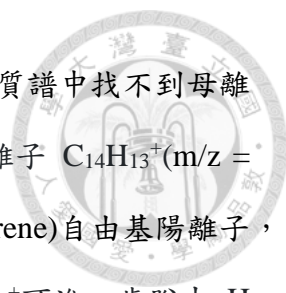
a-9-m3 子離子如表 46，由於子離子數量較多僅列出訊號強度較強之關鍵子離子結構，如表 18，母離子 $C_{12}H_{18}FN_2O^+$ ($m/z = 225.1397$) 可確定是 a-9 羥基化代謝物，但羥基分子上的位置需要從子離子種類才能得知，若羥基在苯環或亞甲基上，a-9-m3 應當能找到苯環或亞甲基接有羥基的子離子，但從 $C_9H_9FN^+$ 及 $C_8H_7FN^+$ 兩個包含苯環，訊號較強的子離子均未發現羥基，因此可推測羥基是接在哌嗪上。 $C_{12}H_{17}FN_2^+$ 可確認其結構為 $C_{12}H_{18}FN_2O^+$ 脫去羥基之自由基陽離子(radical cation)，同時為 a-9-m3 為訊號最強之子離子，由此得知此自由基陽離子結構穩定，進而推斷羥基與哌嗪的三級胺而非碳原子鍵結，因為三級胺脫去羥基形成自由基比二級碳脫去羥基形成的自由基穩定。含 N-羥基三級胺結構之母離子在 HCD 碰撞室中容易形成脫去 N-羥基三級胺結構[88][89]。若 a-9-m3 的羥基與甲基鍵結之胺基鍵結，會脫去 C_3H_8NOH ($m/z = 75.0684$) 結構，產生 $C_9H_9FN^+$ ($m/z = 150.0713$) 之子離子，若與羥基另一個胺基鍵結，則不會有高強度的 $C_9H_9FN^+$ 子離子，從表 46 可發現 $C_9H_9FN^+$ 子離子訊號強度比值為 0.3717，進而確定 a-9-m3 之結構如表 18。

表 17 a-9-m1 子離子結構

m/z	195.1293	175.1231	109.0452
分子式	$C_{11}H_{16}FN_2^+$	$C_{11}H_{15}N_2^+$	$C_7H_6F^+$
結構			
m/z	85.0766	83.0297	56.0502
分子式	$C_4H_9N_2^+$	$C_5H_4F^+$	$C_3H_6N^+$
結構			

表 18 a-9-m3 子離子結構

m/z	225.1397		208.1372
分子式	$C_{12}H_{18}FN_2O^+$		$C_{12}H_{17}FN_2^+$
結構			
m/z	150.0715		136.0558
分子式	$C_9H_9FN^+$		$C_8H_7FN^+$
結構			
m/z	99.0917	72.0808	58.0658
分子式	$C_5H_{11}N_2^+$	$C_4H_{10}N^+$	$C_3H_8N^+$
結構			



a-10-m2 子離子如表 47，主要子離子結構如表 19，在二次質譜中找不到母離子 $C_{14}H_{16}N^+$ ($m/z = 198.1277$)，母離子脫去 NH_3 成訊號最強子離子 $C_{14}H_{13}^+$ ($m/z = 181.1010$)，子離子 $C_{13}H_{10}^+$ ($m/z = 166.0783$) 推測結構上為芴 (fluorene) 自由基陽離子， $C_{13}H_{10}^+$ 因互變結構高度穩定 (如圖 51) 而有第三強的訊號， $C_{13}H_{10}^+$ 可進一步脫去 H 成為 $C_{13}H_9^+$ ($m/z = 165.0697$)， $C_{13}H_9^+$ 有類似共振結構亦高度穩定 [90]，因此 $C_{13}H_9^+$ 有相對較強的訊號， $C_8H_7^+$ ($m/z = 103.0545$) 也因共振結構而有第二強的訊號。

a-10-m3 與 a-10-m4 雖然呈現處兩個 RT 不同的訊號峰，但從表 48 及表 49 可發現二者子離子組成接近，根據 F. Khachik 等人研究，液相層析中動相與樣品溶劑及分析物三者的極性差異，可能導致分析物訊號峰變形成兩個訊號峰，而被誤判為兩種不同的成分 [91]，類似效應是否發生在 a-10-m3 及 a-10-m4 兩個訊號峰之間，必須用標準品確認，本研究毒品及代謝物均為新發現之化合物，故沒有進一步以標準品作確認。就 a-10-m3 及 a-10-m4 二次質譜的高度相似，可假設極性導致訊號峰變形是造成單一代謝物分裂成 a-10-m3 及 a-10-m4 兩個訊號峰的主要原因，a-10-m3 及 a-10-m4 將被視為同一種代謝物。

a-10-m3、a-10-m4 主要子離子結構如表 20，母離子分子式 $C_{17}H_{22}NO^+$ ($m/z = 256.1691$)，為羥基化之 a-10，從訊號最強的子離子 $C_{14}H_{13}O^+$ 及 $C_3H_{10}N^+$ 可知羥基不與丙基及胺基鍵結， $C_{14}H_{13}O^+$ 可脫去一個水分子變成 $C_{14}H_{11}^+$ (如圖 52)，因此推測羥基不與苯環鍵結，訊號第二強的子離子為 $C_8H_7O^+$ ，脫去 CO 後轉化成訊號第三強的 $C_7H_7^+$ 離子。

a-10-m6 的子離子如表 50，主要子離子結構如表 21，a-10-m6 母離子 $C_{17}H_{22}NO^+$ ($m/z = 256.1332$)，為 a-10 羥基化之代謝物，從 $C_3H_{10}NO^+$ 離子得知羥基與丙基或是胺基鍵結， $C_8H_7^+$ 有共振結構因此子離子訊號強度較強。

表 19 a-10-m2 子離子結構

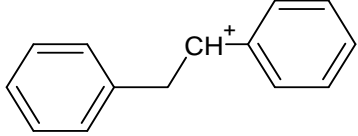
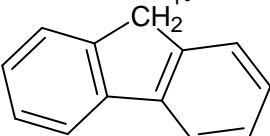
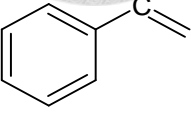
m/z	181.1010	166.0783	103.0545
分子式	$C_{14}H_{13}^+$	$C_{13}H_{10}^+$	$C_8H_7^+$
結構			

表 20 a-10-m3、a-10-m4 子離子結構

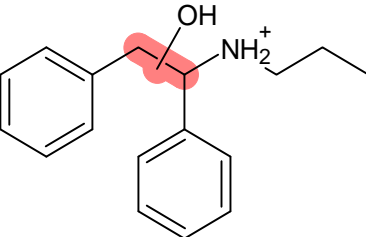
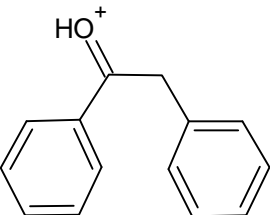
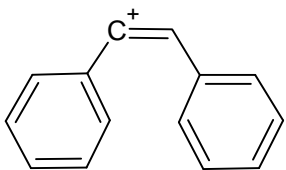
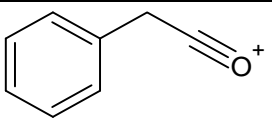
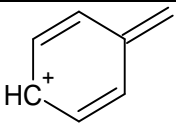
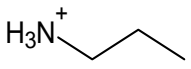
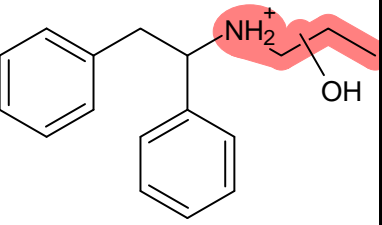
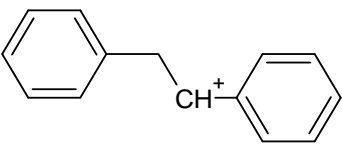
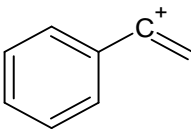
m/z	256.1691	197.0959	179.0853
分子式	$C_{17}H_{22}NO^+$	$C_{14}H_{13}O^+$	$C_{14}H_{11}^+$
結構			
m/z	119.0493	91.0546	60.0814
分子式	$C_8H_7O^+$	$C_7H_7^+$	$C_3H_{10}N^+$
結構			

表 21 a-10-m6 子離子結構

m/z	256.1691	181.1009	103.0545
分子式	$C_{17}H_{22}NO^+$	$C_{14}H_{13}^+$	$C_8H_7^+$
結構			

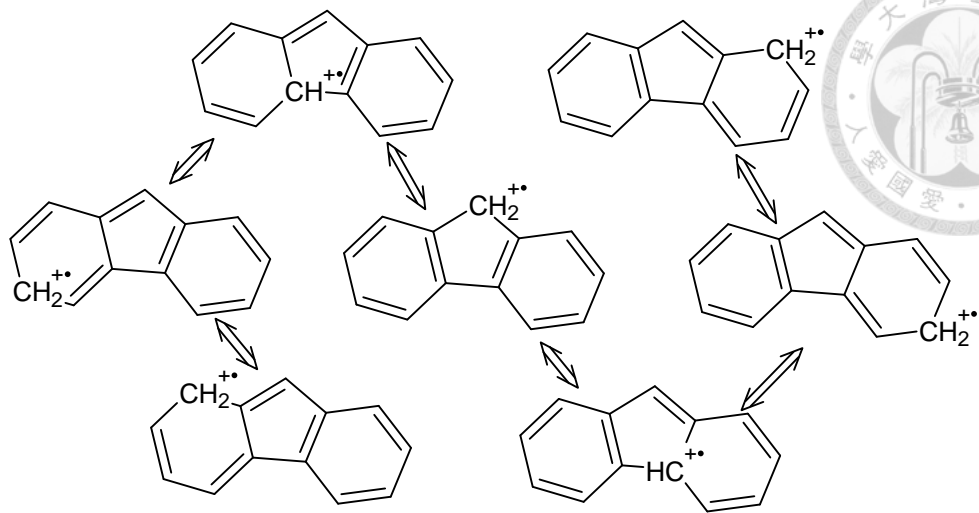


圖 51 $C_{13}H_{10}^+$ 互變結構

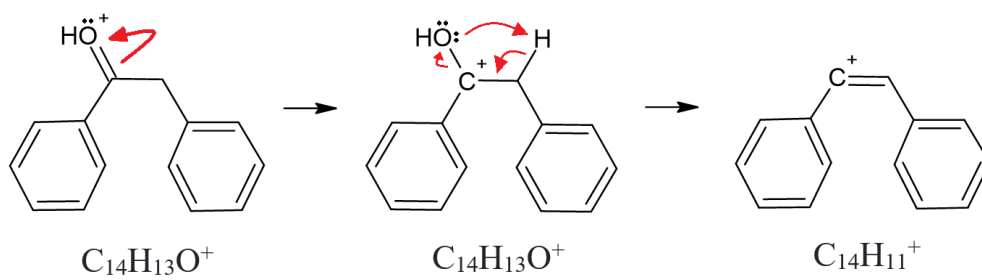


圖 52 $C_{14}H_{13}O^+$ 脫水反應式

a-11-m2 子離子如表 51，主要離子結構如表 22，a-11-m2 母離子 $C_{16}H_{23}FNO_2^+$ ($m/z = 280.1706$) 為 a-11 羥基化之代謝物， $C_{16}H_{21}FNO^+$ ($m/z = 262.1600$) 為 a-11 去羥基脫水後的子離子，從子離子 $C_9H_{18}NO^+$ ($m/z = 156.1383$) 得知羥基不在苯環上。若羥基在吡咯烷上，則可發現羥基化的吡咯烷子離子或相似離子，例如 $C_4H_8NO^+$ 或 $C_4H_{10}NO^+$ ，但是 a-11-m2 子離子不存在羥基化的吡咯烷子離子，推測羥基不在吡咯烷上，加上 $C_4H_7O^+$ 子離子的存在，可推斷羥基在第三丁基上。

a-11-m6 子離子如表 52，主要子離子結構如表 23，a-11-m2 母離子 $C_{16}H_{25}FNO_2^+$ ($m/z = 282.1862$) 為 a-11 羰基還原成羥基後，羥基化之代謝物，其許多子離子分布與 a-11-m2 相似，因此推測羥基化位置與 a-11-m2 一樣皆在第三丁基上，不同的是由於羰基被還原成羥基，羥基比羰基更容易產生脫水反應，因此 $C_7H_6F^+$ 子離子訊號強度較強。

表 22 a-11-m2 子離子結構

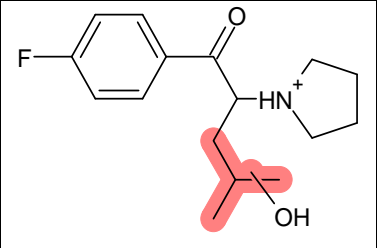
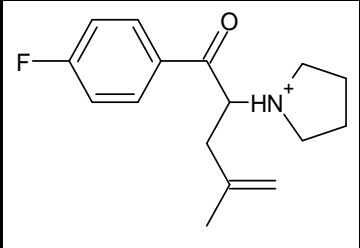
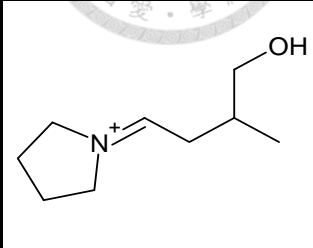
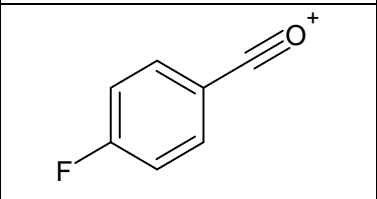
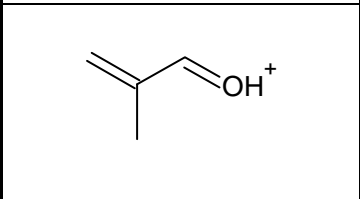
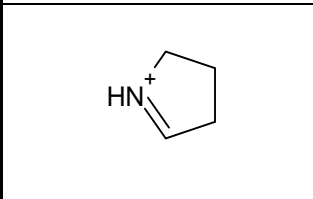
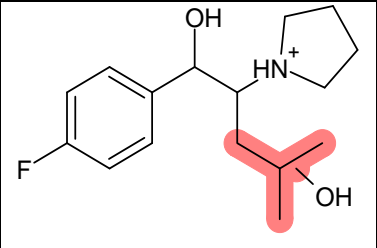
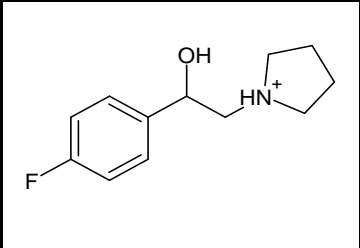
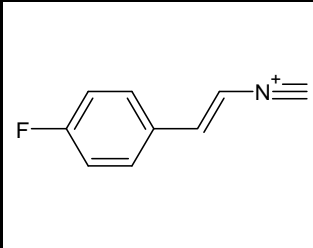
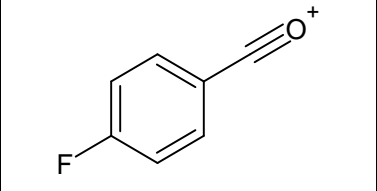
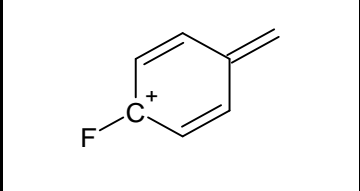
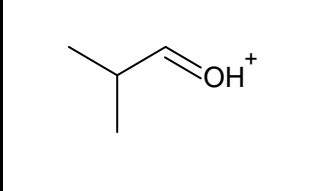
m/z	280.1706	262.1600	156.1383
分子式	$C_{16}H_{23}FNO_2^+$	$C_{16}H_{21}FNO^+$	$C_9H_{18}NO^+$
結構			
m/z	123.0243	71.0498	70.0657
分子式	$C_7H_4FO^+$	$C_4H_7O^+$	$C_4H_8N^+$
結構			

表 23 a-11-m6 子離子結構

m/z	282.1862	210.1287	148.0557
分子式	$C_{16}H_{25}FNO_2^+$	$C_{12}H_{17}FNO^+$	$C_9H_7FN^+$
結構			
m/z	123.0243	109.0451	73.0654
分子式	$C_7H_4FO^+$	$C_7H_6F^+$	$C_4H_9O^+$
結構			



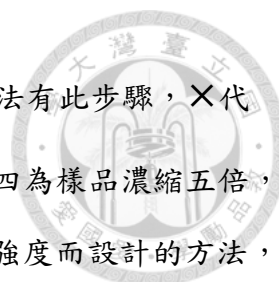
3.4 前處理對代謝物 RIR 影響

生物檢體如血液、血漿、尿液等樣品在進行液相層析分析前，必須經過前處理以排除檢體中的蛋白質等成分，避免這些成分進入液相層析管柱後因溶劑環境變化產生沉澱導致管柱阻塞，造成幫浦壓力過大、層析效能降低等問題[92]。實務上以液相層析質譜儀進行尿液中毒品成分篩檢前，尿液檢品必須經過加入緩衝溶液調整 pH 值、萃取、過濾、抽乾、回溶等前處理步驟才能進行分析，由於尿液檢驗一次必須廣篩數百種毒品代謝物，且調整前處理步驟需重新驗證調整前後鑑定結果一致性等複雜問題，一般不會為了新發現的毒品代謝物特性而調整代謝物的前處理方法。因此針對新興毒品，必需比較該毒品各種代謝物經過尿檢前處理後的訊號強度，以決定何種代謝物最適合做為該毒品用於尿液檢驗的指標代謝物。

3.4.1 實驗方法

此實驗取用 a-9-h12-e、a-10-h12-e、a-11-h12-e 檢品，前處理步驟如下：

1. 取樣：抽取固定體積的樣品加入微量離心管(1.5 mL, Eppendorf)中，抽取體積依前處理方法不同而有所差異。
2. 中和：將 100 μL 濃度 0.1 M $\text{K}_2\text{HPO}_4(\text{aq})$ (pH = 7.4)加入微量離心管中。
3. 萃取：加入 1 mL 的乙酸乙酯於微量離心管中，搖晃塑膠瓶使乙酸乙酯與樣品充分混合，並靜置使乙酸乙酯層與水層分離。
4. 抽乾：以玻璃滴管將乙酸乙酯轉移至玻璃試管中，將試管放入離心式濃縮機，濃縮至試管內溶劑完全蒸發。
5. 回溶：將 200 μL 的溶劑加入玻璃試管內，溶劑種類依前處理方法不同有所差異，溶解試管內樣品。
6. 過濾：加入 20 μL 濃度 50 ppb 之咖啡因水溶液作為內標準品，溶液以玻璃滴管轉移至加裝注射型過濾器的塑膠針筒過濾雜質，濾液盛裝於內嵌 250 μL insert 的 2 mL 樣品瓶內，並進行分析。



七種不同前處理方法各步驟差異如表 24，表中○代表該方法有此步驟，×代表該方法無須經過此步驟，方法一為直接分析，方法二、三、四為樣品濃縮五倍，方法二、三、四是實驗初期為了找到能提高樣品中代謝物訊號強度而設計的方法，當中方法四後來被用作 3.2.1.2 分析代謝物 RIR 之前處理方法，方法五、六為尿檢前處理方法，當中方法六為現在實務上尿液檢驗採用的前處理方法，方法七為測試尿液中代謝物回收率所設計的對照組前處理方法。本實驗根據目的差異分成三個子實驗，此節將逐一針對每個子實驗的實驗目的、實驗設計及實驗結果依序進行介紹，樣品分析 LC-Orbitrap MS 條件同 3.2.1.3，數據積分方法同 3.2.1.4。

表 24 七種前處理方法

步驟	取樣體積	中和	萃取	抽乾	回溶溶劑	過濾
方法一	200 μ L	×	×	×	×	○
方法二	1000 μ L	×	×	○	H ₂ O	○
方法三	1000 μ L	×	×	○	CH ₃ OH	○
方法四	1000 μ L	×	×	○	稀釋液	○
方法五	200 μ L	○	○	○	H ₂ O	○
方法六	200 μ L	○	○	○	CH ₃ OH	○
方法七	200 μ L	×	×	○	CH ₃ OH	○

3.4.2 回溶溶劑與代謝物 RIR 關係

此實驗為研究初期為了找到提高代謝物訊號強度所設計，本實驗取方法一至四之實驗結果進行比較，方法一為對照組，為水樣品過濾後直接進行分析，方法二到四為抽乾斑馬魚代謝水樣品後，再以不同種類，原體積 1/5 的溶劑回溶代謝物，以提高代謝物濃度。不同方法下，代謝物 RIR 與對照組代謝物 RIR 比值如表 25，代謝物中比值最高者以粗體標示。從結果發現除 a-9-m3 外，其餘七種代謝物皆以方法四最能提升代謝物質譜訊號強度，因此在 3.2 及 3.3 的實驗中皆以方法四使用的回溶溶劑作為斑馬魚代謝物樣品前處理使用之溶劑。

表 25 實驗組與對照組 RIR 比值

方法	a-9-m1	a-9-m3	a-10-m2	a-10-m3	a-10-m4
方法二	3.357	7.600	5.419	4.755	5.278
方法三	2.657	6.990	5.517	5.223	5.649
方法四	3.946	6.498	5.551	6.790	7.826
方法	a-10-m6	a-11-m2	a-11-m6	平均	
方法二	4.923	3.184	3.391	4.738	
方法三	4.364	2.628	2.871	4.487	
方法四	5.730	5.355	4.649	5.793	

3.4.3 毒品尿液檢驗前處理對代謝物 RIR 影響

為找出最適合用於毒品尿液檢驗的指標代謝物，本實驗取方法一為對照組，方法五、六為實驗組，方法五、六均為毒品尿液前處理方法，差別在於回溶時使用的溶劑，目前主要以方法六作為毒品尿液檢驗。代謝物經前處理後的回收率 (recovery rate, r %) 定義如式(10)，各種代謝物經前處理後的回收率如表 26

$$r \% = \frac{\text{實驗組代謝物 RIR}}{\text{對照組代謝物 RIR}} \times 100\% \text{ --- (10)}$$

表 26 前處理後代謝物回收率

代謝物	a-9-m1	a-9-m3	a-10-m2	a-10-m3
方法五	28.2%	31.3%	79.9%	93.0%
方法六	48.4%	34.7%	69.2%	69.3%
代謝物	a-10-m4	a-10-m6	a-11-m2	a-11-m6
方法五	87.5%	77.4%	46.5%	51.7%
方法六	61.6%	53.5%	46.0%	49.4%

不論何種代謝物，經過淨化尿液檢體的必須步驟後，其 RIR 皆有所下降，以方法六而言 a-9 代謝物 r % 為 48.4% 及 34.7%；a-10 代謝物 r % 介於 53.5% 至 69.2%；a-11 代謝物 r % 為 46.0% 及 49.4%，a-10、a-11 兩者代謝物回收率皆比 a-9 代謝物高，這可能是 a-9 代謝物結構上有兩個胺基且分子量較小，整體極性較大，導致在萃取時分配係數較小所致，若在較強鹼性環境或許可改善 a-9 代謝物 r %。



比較方法五及方法六的 r % 差異，對 a-9 的二種代謝物，將回溶溶劑從方法六的甲醇改成方法五的水後 r % 減少 20.2% 及 3.4%，a-10 的四種代謝物 a-10 r % 分別增加 10.7%、23.7%、25.9%、23.9%，a-11 的二種代謝物 r % 分別增加 0.5%、2.6%。溶劑調整成水能有效提升 a-10 代謝物的 r %，對 a-11 r % 提升助益不大，對 a-9 反而降低 r %。尿檢前處理方法講求的是在使用一種方法下就能廣泛篩檢出多種毒品代謝物的普遍適用性，若前處理對某種毒品的代謝物 r % 特別低，遍不是一個普遍適用的前處理法，方法五對 a-9 代謝物的 r % 僅約三成，因此相比之下，方法六是比较好的方法。

最後，比較各種代謝物經方法六處理後的 RIR 大小，RIR 最大的最適合用作毒品指標代謝物，結果如圖 53，詳細數值如表 53。a-9 代謝物中，a-9-m1 的 RIR 最大，a-10 代謝物中，a-10-m2 的 RIR 最大，a-11 代謝物中，a-11-m6 的 RIR 最大，這三種 RIR 最大的代謝物，是 a-9、a-10、a-11 未來進行毒品尿檢時的指標代謝物。

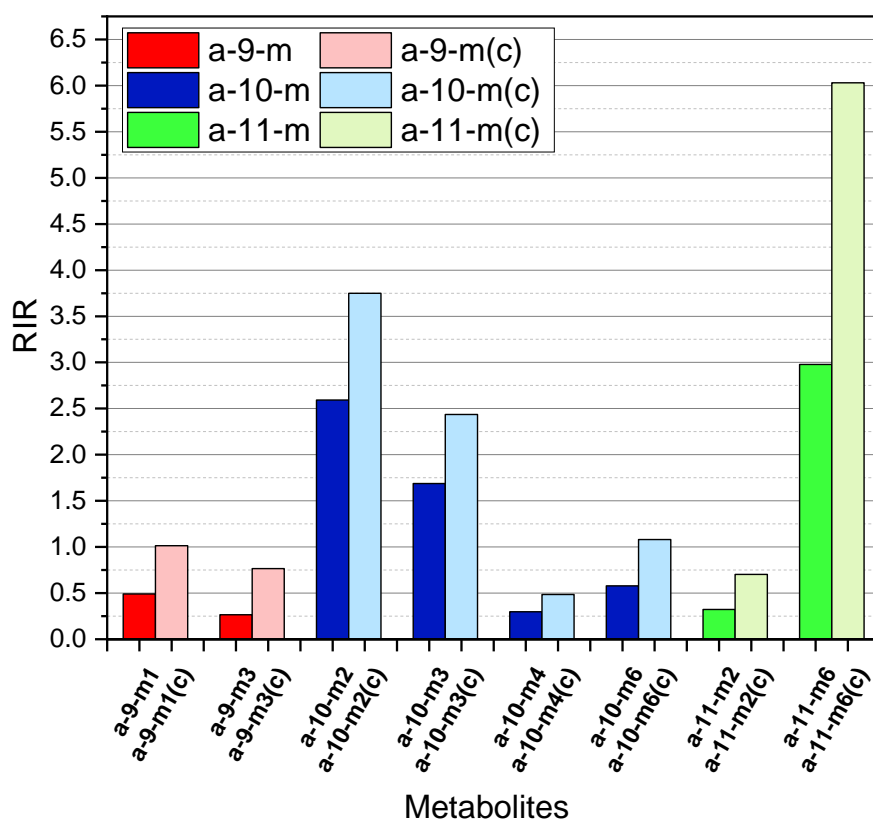


圖 53 方法六前處理後代謝物 RIR，(c)代表對照組



3.4.4 尿液基質對代謝物 RIR 影響

在找到三種毒品的指標代謝物後，為研究尿液基質對代謝物 RIR 的影響，此實驗先將斑馬魚代謝物樣品吹乾，再以 200 μ L 經確認不含任何毒品成分之人體尿液溶解代謝物，形成含有新興毒品代謝物的尿液檢品，再將此尿液中的代謝物通過方法六萃取至檢品內，模擬尿液及萃取過程可能對代謝物 RIR 的影響，並以方法七為對照組(與前兩實驗對照組不同)。考慮到不同人尿液成分存在差異性，本實驗取三個來自不同人的尿液檢體個別進行三次實驗，這三個尿液檢體分別編號為 G16、G17、G18。由於咖啡因於當今人類飲食中普遍存在，作為內標準品的咖啡因會被飲食殘留於尿液中的咖啡因干擾，因此改以氘代安非他命(amphetamine-d8, AM-d8, Cerilliant)為內標準品計算 r %，相關結果如圖 54，詳細結果表 54。

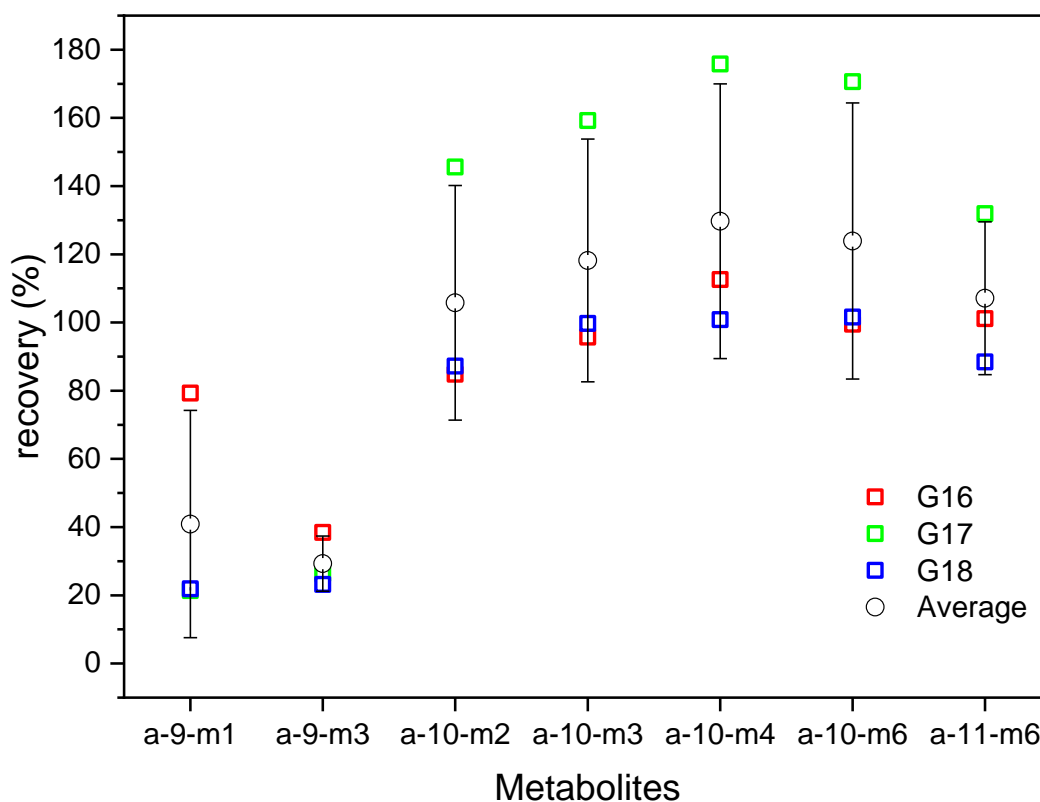



圖 54 尿液基質對代謝物 r % 影響(誤差線為 1 倍標準差)



尿液基質會顯著影響 a-9-m3 的回收率，a-9-m3 回收率約為三成，a-9-m1 的回收率則在個體間呈現較大差異，G16 回收率接近八成，分別是 G17 及 G18 的 3.6 及 3.7 倍，推斷是受個體尿液差異影響，比較 a-9 兩個代謝物，都會受到尿液基質影響，但是在 3.4.3 實驗中已發現 a-9-m1 RIR 較大，因此仍以 a-9-m1 作為指標代謝物為佳。

a-10 四種代謝物回收率平均皆大於 100%，可以推斷 a-10 代謝物 RIR 均不受尿液基質影響而減少，因此仍以 RIR 最大的 a-10-m2 作為指標代謝物。

a-11-m6 回收率平均接近 100%，尿液不影響 a-11-m6 回收率。a-11-m2 經尿液回溶及前處理後，原本 RT = 7.78 的位置看不到 a-11-m2 的訊號峰，反而在 RT = 8.53 出現較大的訊號峰，經二次質譜判定，發現此訊號峰成分與 a-11-m4 相同，然而 a-11-m4 在 3.2.4.2 因迴歸係數小於 0.08、 r^2 小於 0.6 而認定非代謝物，推測代謝物 a-11-m2 在溶解於人體尿液過程中，因某些原因轉化成非代謝物的 a-11-m4，因此 a-11-m2 結果未列於圖 54，可以確定尿液會對 a-11-m2 RIR 造成影響。考慮代謝物穩定性及 RIR 強度，a-11 的代謝物中，仍以 a-11-m6 作為指標代謝物為佳。

在 3.4.3 實驗結論所得到 a-9、a-10、a-11 的三種指標代謝物，a-10-m2 及 a-11-m6 經實驗驗證這二種代謝物經溶於人體尿液檢品再經前處理，回收率下降無顯著差異，a-9-m1 會因尿液差異，RIR 會受到不同程度的影響。



第四章 結論


本研究以質譜法及核磁共振光譜法分析三種於 2023 年 4 月查緝到的新興精神活性物質的結構，並確認這三種精神活性物質皆是基於既有毒品進行官能基修飾而成的全新的新興毒品。接著以將斑馬魚飼養於新興毒品水溶液的方式，將水溶液中的毒品轉化成毒品代謝物，以 LC-Orbitrap MS 分析水溶液中的毒品代謝物濃度變化、確認代謝物種類、排除不適合用於檢驗的代謝物，並以代謝物質譜得知代謝物分子結構。最後以毒品尿液檢驗前處理方法處理含代謝物檢體，並考慮人體尿液基質可能對代謝物訊號強度的影響，將代謝物溶於人體尿液進行試驗，找到經過前處理後仍能維持最高訊號強度的代謝物物種，將其作為新興毒品的指標代謝物，並將新興毒品及其指標代謝物的質譜資訊輸入毒品尿檢的監測序列，擴大毒品篩檢範圍。

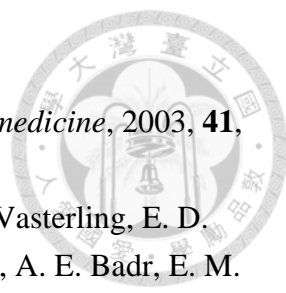
本研究發現了三種全新的新興精神活性物質，並建立起以斑馬魚模型快速取得、辨識新興毒品代謝物的方法，然而，要確認最適合用來篩檢新興毒品的代謝物，最終還是必須以新興毒品施用者的尿液檢體進行試驗，很遺憾在完成毒品結構及代謝物分析至今仍未在發現施用這三種新興毒品的尿液檢體，期待未來能取得尿液檢體以完成本研究的最後一塊拼圖。2023 年 6 月澳大利亞坎培拉的 J. L. Algar 等人也發現了相同的三種新興精神活性物質，並於 2024 年 1 月將他們對毒品結構分析的研究結果發表於 *Drug Test Anal* [93]，臺坎二地分別於兩個月內發現相同毒品恐非偶然，新興毒品在國際間擴散速度可見一斑。未來若能取得三種新興精神活性物質的標準品，便能對本研究所使用的斑馬魚代謝模型取得的研究結果做更好的驗證，期望未來能對斑馬魚代謝模型飼養條件進行試驗，找到以斑馬魚取得代謝物的最佳條件，應對層出不窮新興毒品，建立標準作業程序。

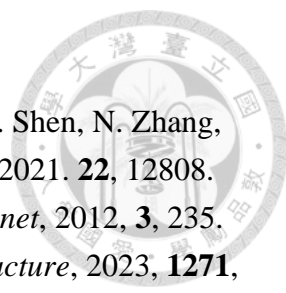
參考資料

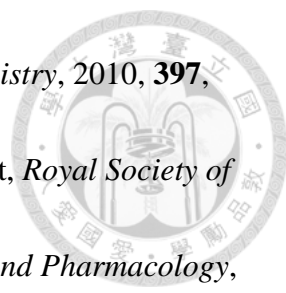


1. E. Guerra-Doce, et al., *Scientific Reports*, 2023, **13**, 4782.
2. S. M. Robinson and B. Adinoff, *Behavioral Sciences*, 2016. 6, 18
3. C. Suwanwela and V. Poshyachinda, *Bulletin on Narcotics*, 1986, **38**, 41-53.
4. A. M. Rosso, *Biomedicine International*, 2010, **1**, 81-87.
5. 佚名, *神農本草經*, 東漢, 卷一, 下經.
6. 苗麗, *太原大學學報*, 2007, **8**, 22-25.
7. National Alliance on Mental Illness, *NAMI Comments on the APA's Draft Revision of the DSM-V Substance Use Disorders*, 2013.
8. B. Rush, *An inquiry into the effects of ardent spirits upon the human body and mind: With an account of the means of preventing, and of the remedies for curing them*, 1823, 1-3.
9. B. S. Katcher, *American Journal of Public Health*, 1993, **83**, 273-281.
10. C. G. Schütz, S. Ramírez-Vizcaya and T. Froese, *Front Psychiatry*, 2018, **9**, 508.
11. D. F. Musto, *Pathways of addiction: opportunities in drug abuse research*, 1996, 284-294.
12. L.A. King and A.T. Kicman, *Drug Testing and Analysis*, 2011. **3**, 401-403.
13. 柯雨瑞, *百年來台灣毒品刑事政策變遷之研究*[博士論文], 2006, 中央警察大學犯罪防治系.
14. A. Lande, *International Organization*, 1962, 16, 776-797.
15. M. F. Weaver, J. A. Hopper and E. W. Gunderson, *Addiction Science & Clinical Practice*, 2015, **10**, 8.
16. D. Luethi and M.E. Liechti, *Arch Toxicol*, 2020. **94**, 1085-1133
17. T. Páleníček, M. Balíková, M. Rohanová, T. Novák, J. Horáček, M. Fujáková and C. Höschl, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2011, 98, 130-139.
18. N. Christin and J. Thomas, *Analysis of the supply of drugs and new psychoactive substances by Europe-based vendors via darknet markets in 2017–18*, 2019, EMCDDA.
19. J.B. Zawilska and D. Andrzejczak, *Drug and alcohol dependence*, 2015. **157**, 1-17.
20. A. Shafi, A. J. Berry, H. Sumnall, D. M. Wood and D. K. Tracy, *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 2020, **10**, 1-21
21. UNODC, *UNODC Early Warning Advisory on New Psychoactive Substances*, <https://www.unodc.org/wdr2013/en/nps.html>.
22. M.R. Vari, S. Pichini, R. Giorgetti, F. P. Busardò, *Forensic Science*, 2019, **1**, 1-35.
23. G. Mercieca, S. Odoardi, M. Cassar and S. Strano Rossi, *Journal of*

- 
- Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, **149**, 494-501.
24. R. R. Contrucci, T. M. Brunt, F. Inan, E. J. F. Franssen and L. Hondebrink, *Therapeutic Drug Monitoring*, 2020, **42**, 75-82.
 25. R. A. Davies, V. T. Nguyen, J. M. Eltit and R. A. Glennon, *ACS Chemical Neuroscience*, 2023, **14**, 2527-2536.
 26. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, *European Drug Report Trends and Developments*, 2022.
 27. R. Le Boisselier, J. Alexandre, V. Lelong-Boulouard and D. Debruyne, *Nature*, 2016, **539**, 369-377.
 28. R. Le Boisselier, J. Alexandre, V. Lelong-Boulouard and D. Debruyne, *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2017, **101**, 220-229.
 29. R. A. Glennon, *Classical hallucinogens: an introductory overview*, NIDA research monograph, 1994, **146**, 4-32.
 30. G. Zhang and R.W. Stackman Jr, *Frontiers in pharmacology*, 2015, **6**, 225.
 31. B. V. Dean, S. J. Stellpflug, A. M. Burnett and K. M. Engebretsen, *Journal of Medical Toxicology*, 2013, **9**, 172-178.
 32. D. E. Nichols, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1981, **70**, 839-849.
 33. A. Abiero, C. J. Botanas, L. V. Sayson, R. J. Custodio, J. B. de la Peña, M. Kim, H. J. Leea, J. W. Seoc, I. S. Ryuc, C. M0 Changd, J. S. Yangd, Y. S. Leed, C. G. Jange, H. J. Kima, J. H. Cheonga, *Behavioural Brain Research*, 2019. **359**, 828-835.
 34. T. Passie, J. H. Halpern, D. O. Stichtenoth, H. M. Emrich and A. Hintzen, *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2008, **14**, 295-314.
 35. B. Pat, "dancing plague of 1518" in Encyclopedia Britannic,
<https://www.historynet.com/the-dancing-plague-of-1518-historys-oddest-epidemic>
 36. H. Morris and J. Wallach, *Drug testing and analysis*, 2014, **6**, 614-632.
 37. B. Sinner and B. Graf, *Modern anesthetics*, 2008, 313-333.
 38. C. S. D. Wink, G. M. J. Meyer, J. Zapp and H. H. Maurer, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, **407**, 1545-1557.
 39. F. Zapata, J. M. Matey, G. Montalvo, C. García-Ruiz, *Microchemical Journal*, 2021, **163**, 105877.
 40. C. Campo-Soria, Y. Chang and D.S. Weiss, *British Journal of Pharmacology*, 2006, **148**, 984-990.
 41. A. Alkattan, E. Alsalamdeen and A. Ahmed, *Central Nervous System Depressant Drugs: Updated Review*. Preprints 2021, 2021010503,
<https://doi.org/10.20944/preprints202101.0503.v1> 2021.
 42. P. M. Beardsley and Y. Zhang, *New Psychoactive Substances*, **2018**, Springer

- 
- Nature Switzerland.
43. P. M. Wax, C. E. Becker and S.C. Curry, *Annals of emergency medicine*, 2003, **41**, 700-705.
 44. A. N. Edinoff, A. N. Edinoff, D. M. Garza, S. P. Vining, M. E. Vasterling, E. D. Jackson, K. S. Murnane, A. M. Kaye, R. N. Fair, Y. J. L. Torres, A. E. Badr, E. M. Cornett, A. D. Kaye, *Pain and Therapy*, 2023. **12**, 399-421.
 45. N. Forsgard, M. Salehpour and G. Possnert, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2010, **25**, 74-78.
 46. J. S. Tsai and G.L. Lin, *Drugs of Abuse: Body Fluid Testing*, 2005, Humana Press.
 47. J. Beran and L. Kevan, *The Journal of Physical Chemistry*, 1969, **73**, 3866-3876.
 48. H. Awad, M.M. Khamis and A. El-Aneed, *Applied Spectroscopy Reviews*, 2015, **50**, 158-175.
 49. A. T. James and A. J. Martin, *Biochemical Journal*, 1952. **50**, 679-690.
 50. H. Barth, *LCGC North America*, 2018, **36**, 830-835.
 51. K. D. Bartle and P. Myers, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2002, **21**, 547-557.
 52. A. M. Haag, *Modern proteomics—sample preparation analysis and practical applications*, 2016, Springer Cham.
 53. S. Banerjee and S. Mazumdar, *International Journal of Analytical Chemistry*, 2012. **2012**,1-40.
 54. Thermo Fisher Scientific, *Exactive Series Operating Manual*, 2017.
 55. A. Kaufmann, *Selecting the best Q Exactive Orbitrap mass spectrometer scan mode for your application*, 2018.
 56. E. D. Becker, *Analytical Chemistry*, 1993, **65**, 295-3020.
 57. R. G. Brinson, *Molecules*, 2021, **26**, 7091.
 58. X. Liu, *Organic Chemistry I*, 2021, Kwantlen Polytechnic University.
 59. H. Günther, *NMR Spectroscopy*, 2013, Wiley.
 60. G. L. Henderson, *Forensic Science International*, 1993, **63**, 19-29.
 61. A. Palmer, S. Pichini, R. Pacifici, P. Zuccaro and A. Lopezi, *Clinical Pharmacokinetics*, 2000, **38**, 95-110.
 62. A. J. Jenkins, S. Kerrigan, *Principles of forensic toxicology*, 2020, Springer Nature Switzerland..
 63. M. Parvez, M. Parvez, L. B. Qhanya¹, N. T. Mthakathi¹, I. K. R. Kgosiemang¹, H. D. Bamal¹, N. S. Pagadala, T. Xie, H. Yang, H. Chen, C. W. Theron, R. Monyaki¹, S. C. Raseleman¹, V. Salewe¹, B. L. Mongale¹, R. G. Matowane¹, S. M. H. Abdalla¹, W. I. Booi¹, M. Wyk¹, D. Olivier¹, C. E. Boucher, D. R. Nelson, J. A. Tuszynski, J. M. Blackburn, J. H. Yu, S. S. Mashele¹, W. Chen and K. Syed,

- 
- Scientific Reports*, 2016, **6**, 33099.
64. M. Zhao, J. Ma, M. Li, Y. Zhang, B. Jiang, X. Zhao, C. Huai, L. Shen, N. Zhang, L. He and S. Qin, *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**, 12808.
 65. R. Torre, S. Y. Lahoz¹, R. P. Lozano¹ and M. Farr, *Front in Genet*, 2012, **3**, 235.
 66. N. Awasthi, R. Yadav and D. Kumar, *Journal of Molecular Structure*, 2023, **1271**, 134126.
 67. D. Dalvie, R. S. Obach, P. Kang, C. Prakash, C. M. Loi, S. Hurst, A. Nedderman, L. Goulet, E. Smith, H. Z. Bu and D. A. Smith, *Chemical Research in Toxicology*, 2009, **22**, 357-368.
 68. S. Asha and M. Vidyavathi, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, **160**, 1699-1722.
 69. N. Walle, F. Nordmeier, A. A. Doerr, B. Peters, M. W. Laschke, M. D. Menger, P. H. Schmidt, M. R. Meyer, N. Schaefer, *Drug Testing and Analysis*, 2021, **13**, 74-90.
 70. V. Burkina, V. Burkinaa, M. K. Rasmussenb, N. Pilipenkoc, G. Zamaratskaia, *Toxicology*, 2017, **375**, 10-27.
 71. P. Brown, W. P. Brown¹, R. M. C. Luengo, K. H. Wolfe, K. P. Byrne and C. D Mrphy, *Scientific Reports*, 2019, **9**, 9240.
 72. T. Nawaji, T. Nawaji, N. Yamashita, H. Umeda, S. Zhang, N. Mizoguchi, M. Seki, T. Kitazawa and H. Teraoka, *Pharmaceuticals*, 2020, **13**, 456.
 73. C. S. Anselmo, V. F. Sardela, B. F. Matias, A. R. Carvalho, V. P. Sousa, H. M. G. Pereira and F. R. A. Neto, *Drug Testing and Analysis*, 2017, **9**, 1685-1694.
 74. E. Prado, R. R. Matos, G. M. L. Gomes, C. B. L. Sá, I. K. C. Nunes, C. S. Anselmo¹, A. S. Oliveira, L. S. A. Cohen, D. S. Siqueira, M. A. M. Oliveira, J. C. L. Ambrosio, G. V. Costa, F. R. A. Neto, M. C. Padilha and H. M. G. Pereira, *Forensic Toxicology*, 2021, **39**, 73-88.
 75. D. R. Nelson, J. V. Goldstone and J. J. Stegeman, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, **368**, 20120474.
 76. V. F. Sardela, C. S. Anselmo¹, I. K. C. Nunes, G. R. A. Carneiro¹, G. R. C. Santos, A. R. Carvalho, B. J. Labanca¹, D. S. Oliveira, W. D. Ribeiro¹, A. L. D. Araujo, M. C. Padilha, C. K. F. Lima, V. P. Sousa, F. R. A. Neto, H. M. G. Pereira, *Drug Testing and Analysis*, 2018, **10**, 1657-1669.
 77. G. G. Gibson and P. Skett, *Introduction to drug metabolism*, 2013, Springer.
 78. U. A. Meyer, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 1996, **24**, 449-459.
 79. J. N. Johnston, I.D. Henter and C.A. Zarate, *Pharmacology & Therapeutics*, 2023, **246**, 108431.

- 
80. E. M. Thurman and I. Ferrer, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2010, **397**, 2807-2816.
81. R. Wodtke, J. Steinberg, M. Kockerling, R. Loser and C. Mamat, *Royal Society of Chemistry*, 2018, **8**, 40921-40933.
82. U. Antia, M.D. Tingle and B.R. Russell, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2009, **61**, 877-882.
83. Y. Masubuchi, S. Hosokawa, T. Horie, T. Suzuki, S. Ohmori, M. Kitada and S. Narimatsu, *Drug Metabolism and Disposition*, 1994, **22**, 909-915.
84. H. Youssef and B. Roselyne, *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, **30**, 853.
85. O. V. Olesen and K. Linnet, *The Journal of Clinical Pharmacology*, 2001, **41**, 823-832
86. K. Zaitso, M. Katagi, H. Tsuchihashi and A. Ishii, *Forensic Toxicology*, 2014, **32**, 1-8.
87. B. T. Lopes, M. J. Caldeira, H. Gaspar and M. M. Alexandra, *Frontiers in Chemistry*, 2021, **8**, 609251.
88. G. Shulman and W. Link, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1964, **41**, 329-331.
89. S. W. Holman, P. Wright and G.J. Langley, *Analytical Chemistry*, 2010, **82**, 2347-2354.
90. J. Szczepanski, M. J. Dibben, W. Pearson, J. R. Eyler and M. Vala, *The Journal of Physical Chemistry A*, 2001, **105**, 9388-9395.
91. F. Khachik, G. R. Beecher, J. T. Vanderslice and G. Furrow, *Analytical chemistry*, 1988, **60**, 807-811.
92. J. Stone, *Spectroscopy Europe*, 2018, **6**, 15-18.
93. J. L. Algar, D. J. Lawes, A. J. Carroll, D. Caldicott and M. D. McLeod, *Drug Testing and Analysis*, 2024, **1**, 1-11.
94. M. Murari, S. Pesavento, F. Greco, A. Vettori, F. Tagliaro, R. Gottardo, *Drug Testing and Analysis*, 2024, **16**, 629-637.

附圖

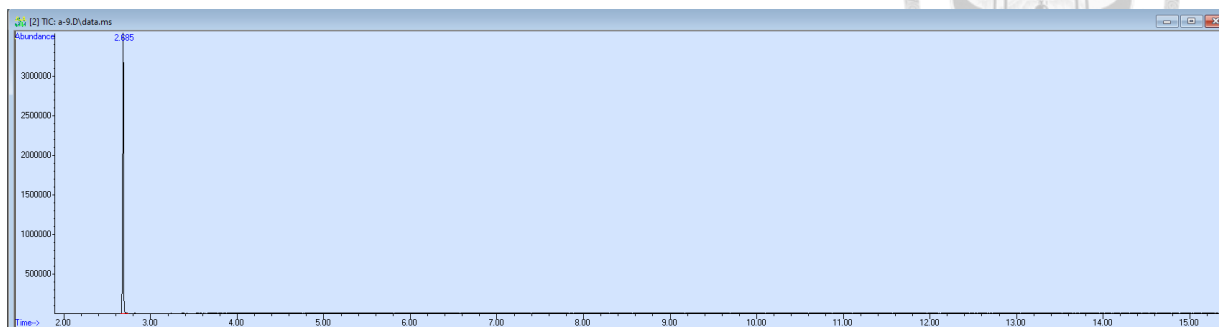


圖 55 a-9 TIC

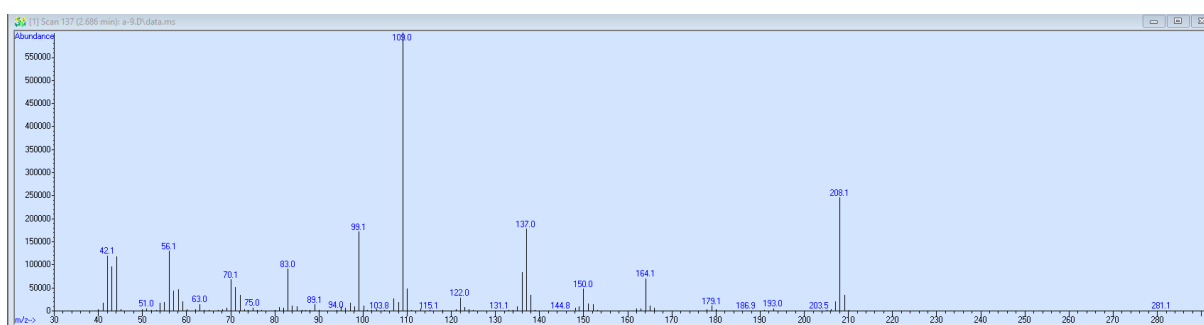


圖 56 a-9 質譜

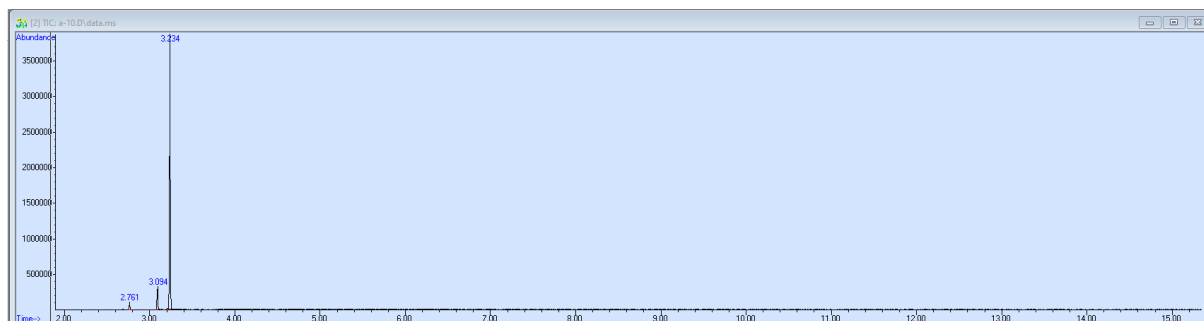


圖 57 a-10 TIC

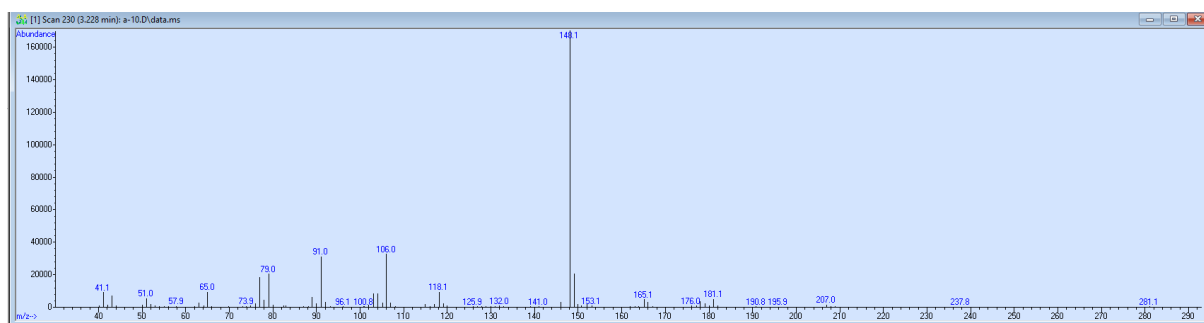


圖 58 a-10 質譜

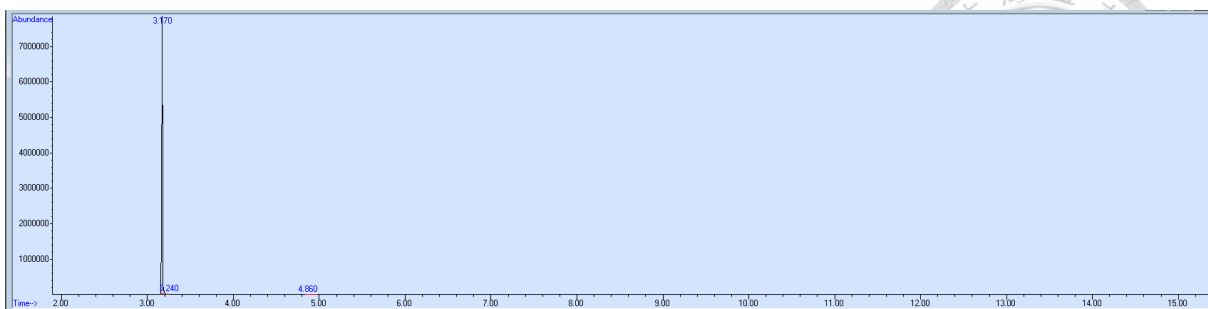


圖 59 a-11 TIC

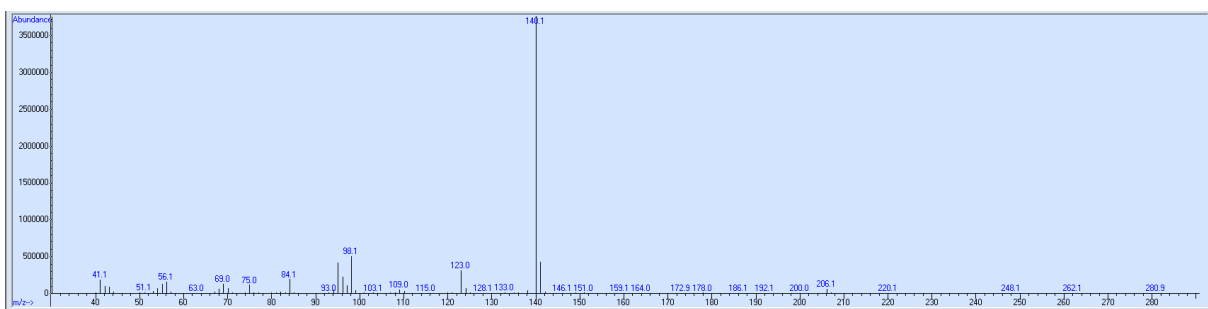


圖 60 a-11 質譜

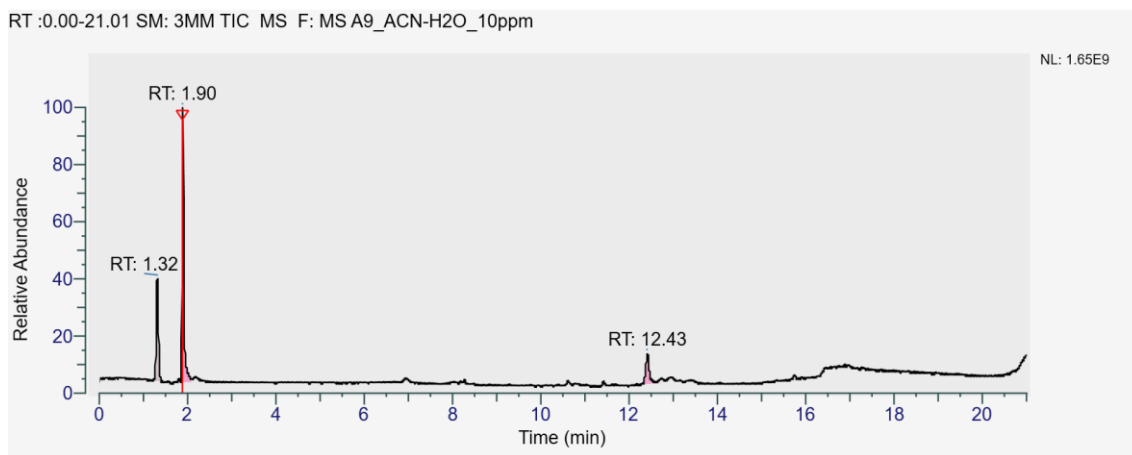


圖 61 a-9 液相層析 TIC

A9_ACN-H2O_10ppm #606 RT: 1.90 AV: 1 NL: 1.28E9
T: FTMS + p ESI Full ms [120.0000-1000.0000]

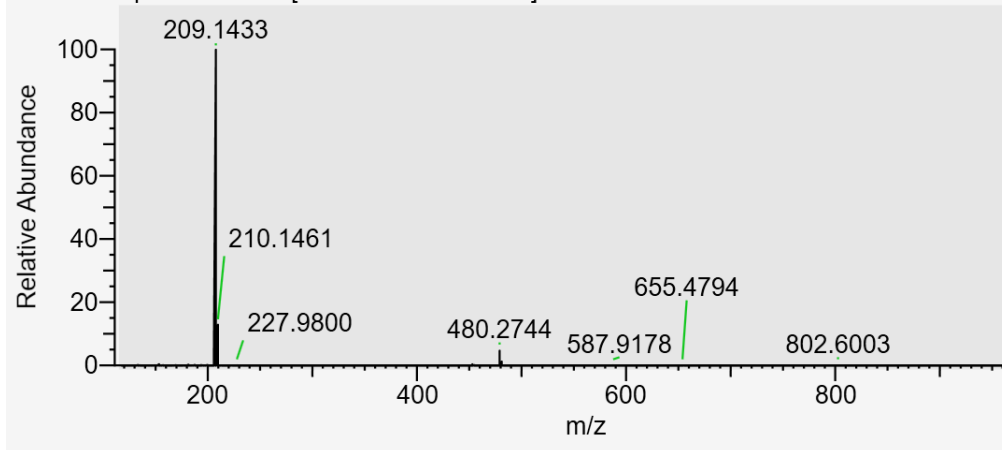


圖 62 a-9 一次質譜

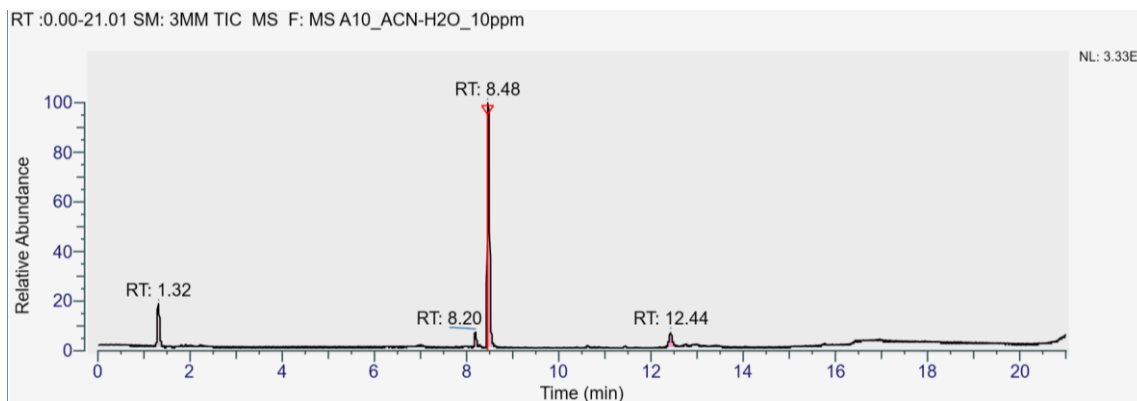


圖 63 a-10 液相層析 TIC

A10_ACN-H2O_10ppm #2391 RT: 8.47 AV: 1 NL: 2.01E9
T: FTMS + p ESI Full ms [120.0000-1000.0000]

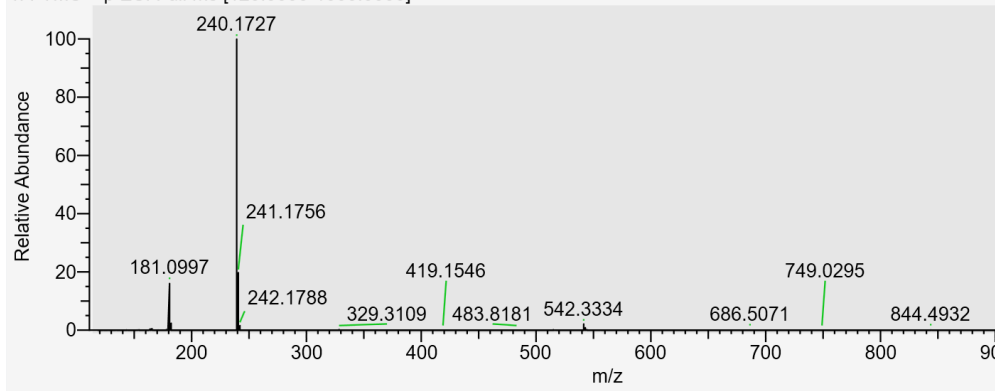


圖 64 a-10 一次質譜

RT :0.00-21.00 SM: 3MM TIC MS F: MS A11_ACN-H2O_10ppm

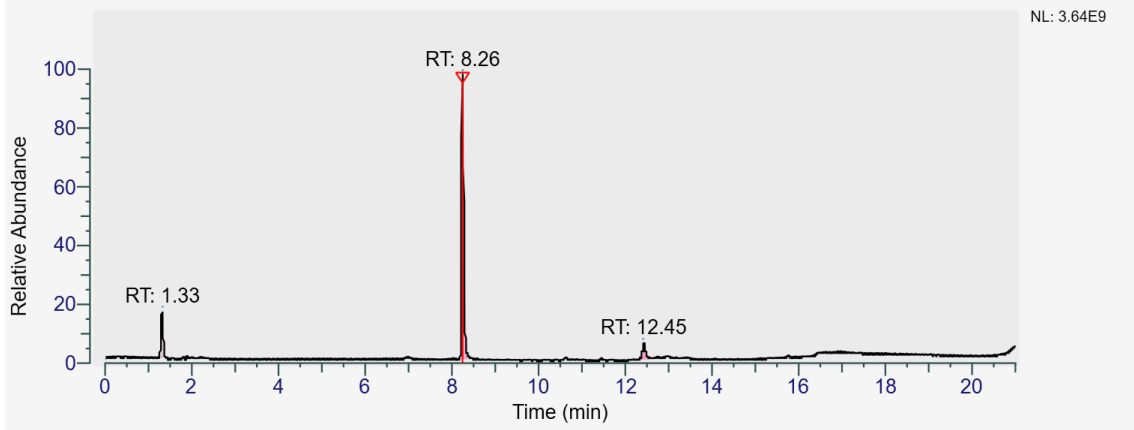


圖 65 a-11 液相層析 TIC

A11_ACN-H2O_10ppm #2336 RT: 8.26 AV: 1 NL: 2.71E9
T: FTMS + p ESI Full ms [120.0000-1000.0000]

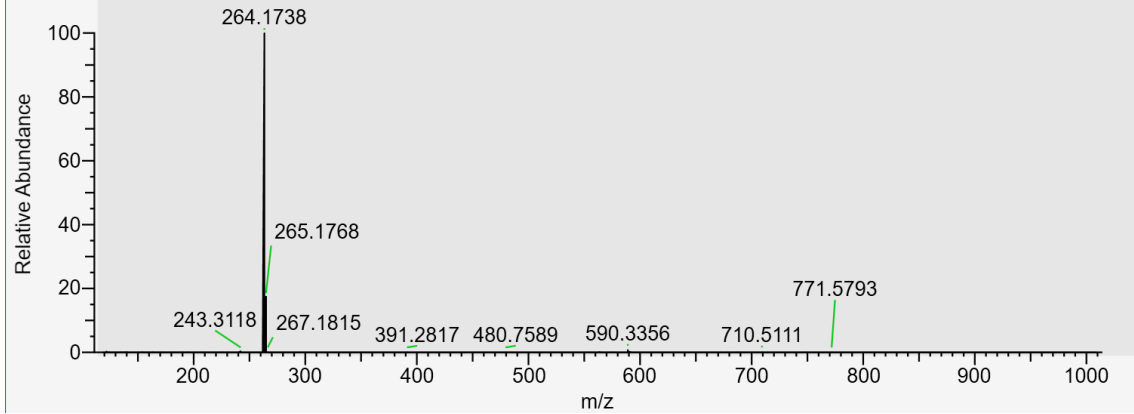


圖 66 a-11 一次質譜

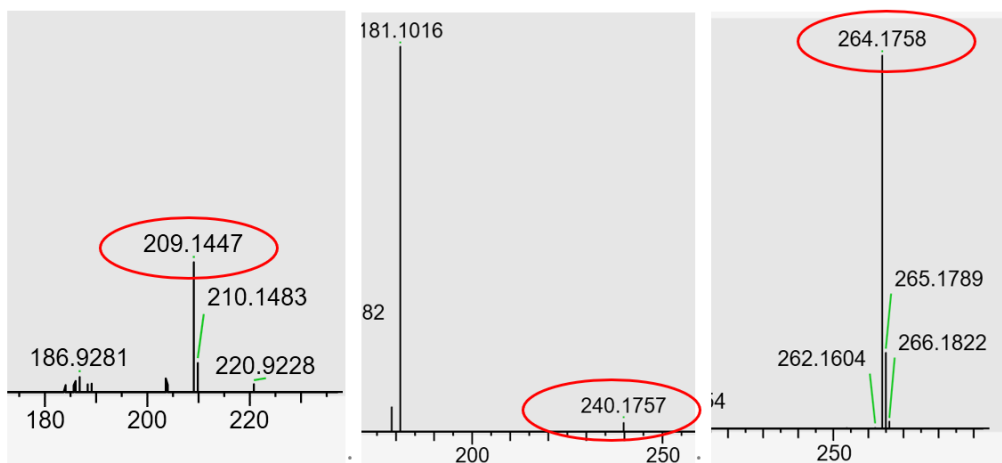


圖 67 a-9、a-10、a-11(由左至右)之精確分子量

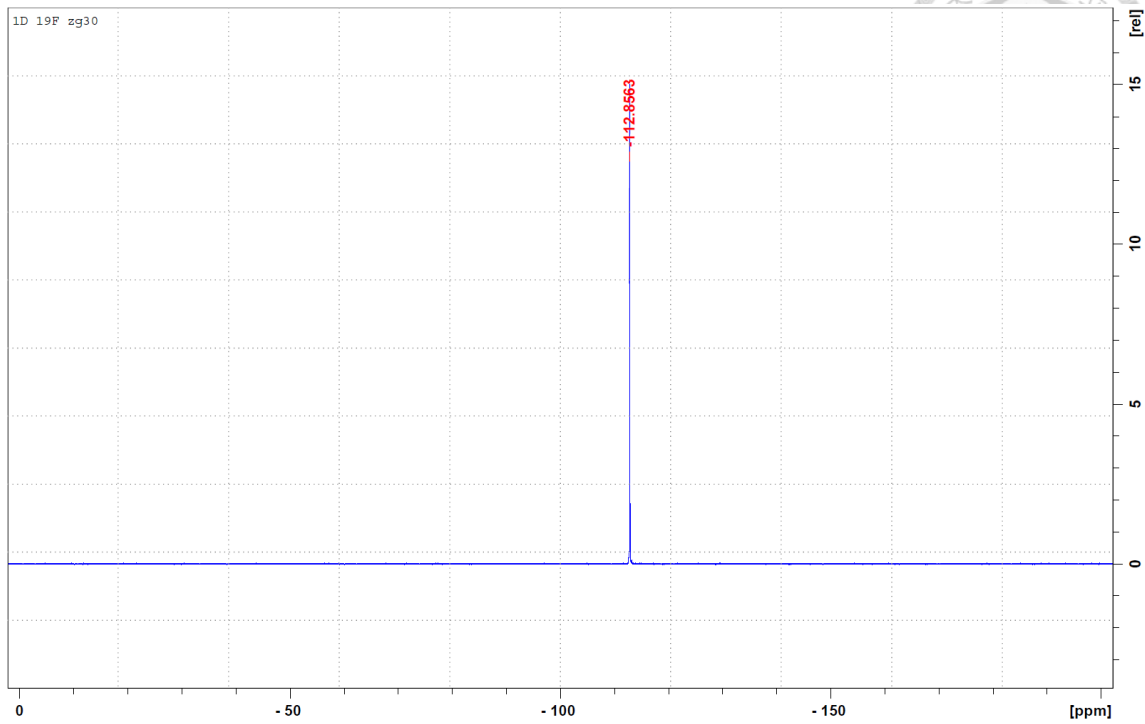


圖 68 a-9 ¹⁹F 譜

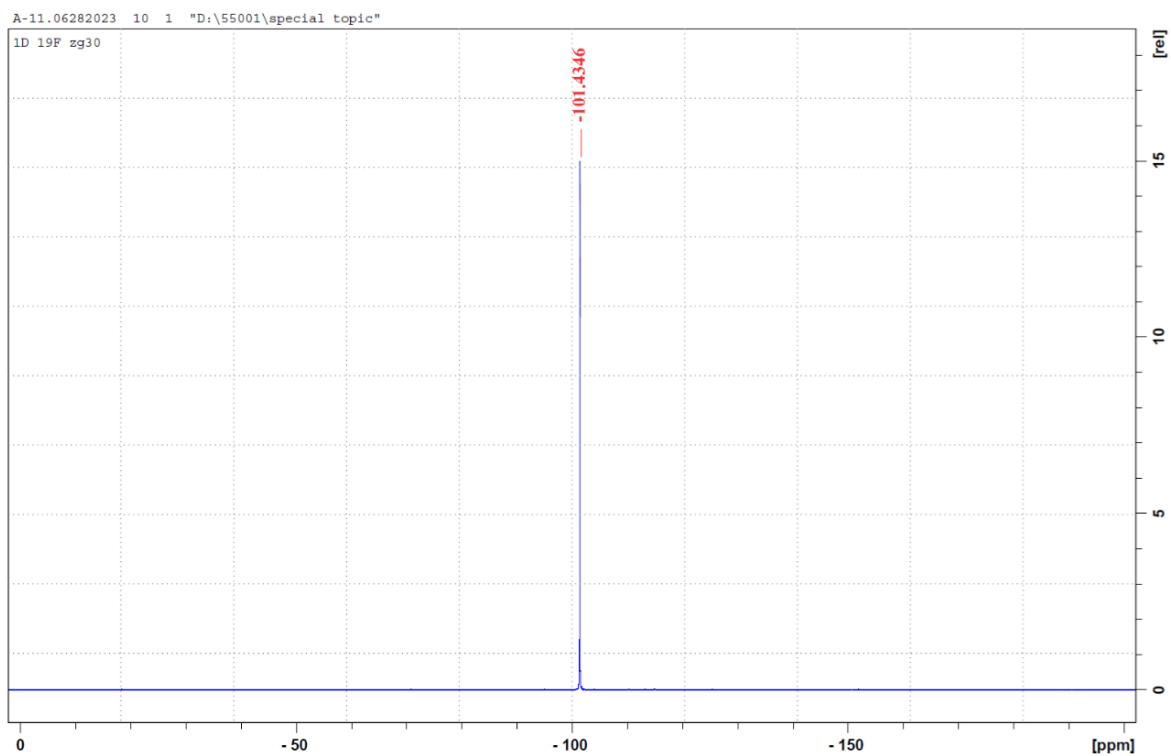


圖 69 a-11 ¹⁹F 譜

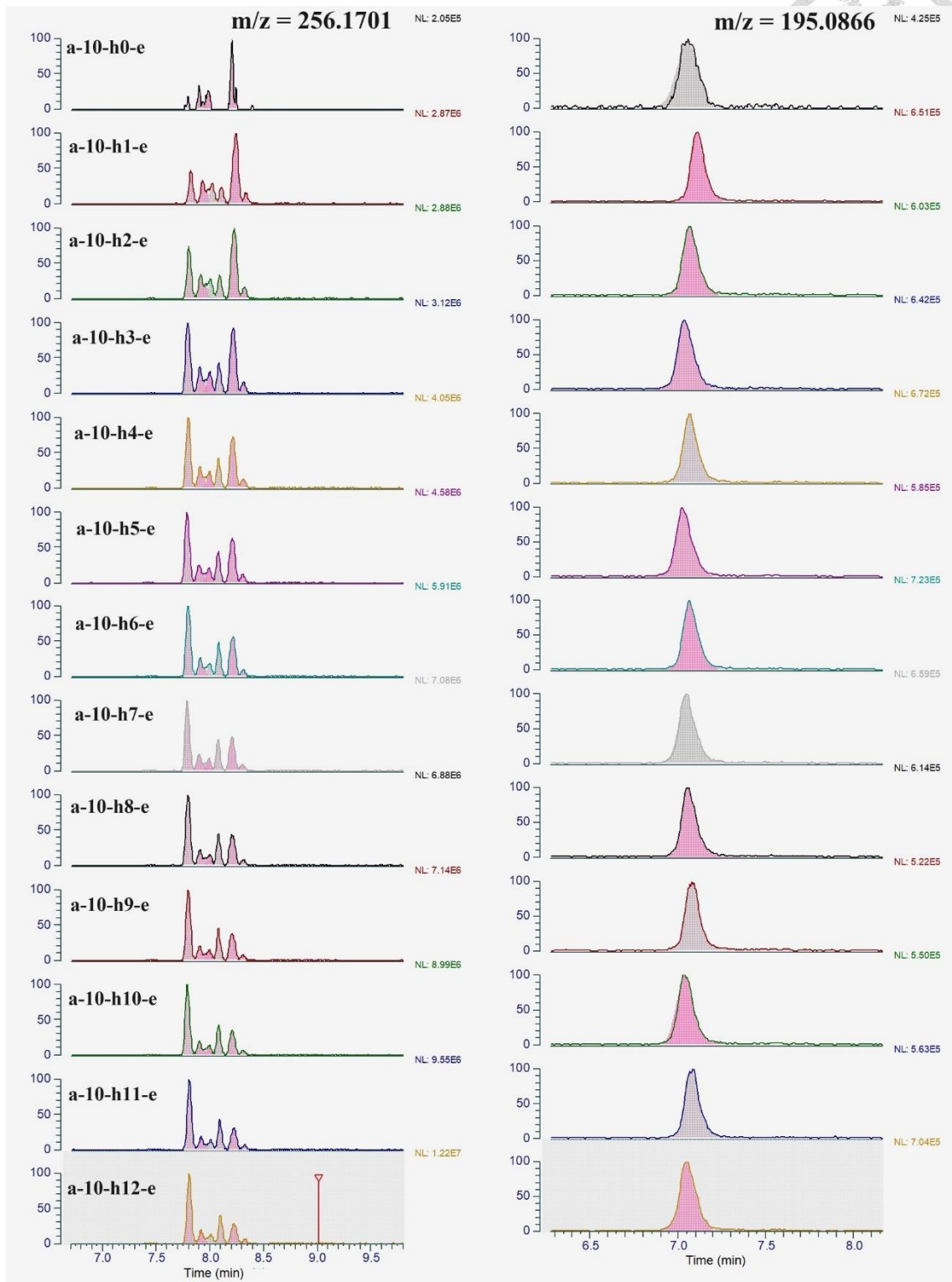


圖 70 代謝物 RIR 積分示意圖

附表



表 27 a-9、a-10、a-11 單一同位素質量與分子式

編號	測得單一同位素質量(u)	分子式	單一同位素質量(u)	誤差(ppm)
a-9	209.1447	C ₁₂ H ₁₈ FN ₂ ⁺	209.1449	-0.96
a-10	240.1757	C ₁₇ H ₂₂ N ⁺	240.1747	4.16
a-11	264.1758	C ₁₆ H ₂₃ FNO ⁺	264.1758	0.00

表 28 a-9 HMBC 交叉峰訊號列表

訊號 (ppm,ppm)	氫原子 編號	碳原子 編號	訊號 (ppm,ppm)	氫原子 編號	碳原子 編號
δ(2.92,48.0)	H1	C3	δ(7.17,114.1)	H5	C5
δ(4.32,45.8)	H3	C2	δ(7.17,121.3)	H6	C6
δ(4.32,121.3)	H3	C6	δ(7.45,131.3)	H4	C7
δ(4.32,131.3)	H3	C7	δ(7.17,160.5)	H5	C8
δ(7.45,57.4)	H4	C4	δ(7.45,160.5)	H4	C8

表 29 a-10 氫譜訊號列表

訊號 (ppm)	氫原子編號	積分值	訊號 (ppm)	氫原子編號	積分值
δ = 0.88	H1	3.00	δ = 6.92	H8	2.04
δ = 2.00	H2	2.09	δ = 7.09	H9	3.03
δ = 2.70	H3	2.00	δ = 7.34	H7	3.37
δ = 3.50	H5	1.01	δ = 7.47	H6	2.02
δ = 4.05	H5'	1.01	δ = 10.07	HN	1.95
δ = 4.22	H4	1.02	δ = 10.41		

表 30 a-10 ^{13}C 譜訊號列表

訊號 (ppm)	碳原子編號	級數	訊號 (ppm)	碳原子編號	級數
$\delta = 11.4$	C1	一級	$\delta = 128.3$	C11	三級
$\delta = 19.5$	C2	二級	$\delta = 128.7$	C6	三級
$\delta = 40.8$	C5	二級	$\delta = 129.2$	C7	三級
$\delta = 47.8$	C3	二級	$\delta = 129.4$	C9	三級
$\delta = 65.5$	C4	三級	$\delta = 133.7$	C12	四級
$\delta = 125.9$	C8	三級	$\delta = 135.8$	C13	四級
$\delta = 126.7$	C10	三級			

表 31 a-10 COSY 交叉峰訊號列表

訊號 (ppm,ppm)	關聯氫原子編號	訊號(ppm,ppm)	關聯氫原子編號
$\delta(0.88,2.00)$	H1-H2	$\delta(6.90,7.09)$	H8-H9
$\delta(2.00,2.70)$	H2-H3	$\delta(7.34,7.47)$	H7-H6
$\delta(3.50,4.05)$	H5-H5'	$\delta(4.22,10.07)$	H4-H _N
$\delta(3.50,4.22)$	H5-H4	$\delta(2.70,10.07)$	H3-H _N
$\delta(4.05,4.22)$	H5'-H4	$\delta(2.70,10.41)$	

表 32 a-10 HSQC 交叉峰訊號列表

訊號 (ppm,ppm)	氫原子編號	碳原子編號	訊號 (ppm,ppm)	氫原子編號	碳原子編號
$\delta(0.88,11.4)$	H1	C1	$\delta(6.90,129.4)$	H8	C9
$\delta(2.00,19.5)$	H2	C2	$\delta(7.09,126.7)$	H9	C10
$\delta(2.70,47.8)$	H3	C3	$\delta(7.09,128.3)$	H9	C11
$\delta(4.22,65.5)$	H4	C4	$\delta(7.34,129.2)$	H7	C7
$\delta(3.50,40.8)$	H5	C5	$\delta(7.34,125.9)$	H7	C8
$\delta(4.05,40.8)$	H5'	C5	$\delta(7.47,128.7)$	H6	C6



表 33 a-10 NOESY 交叉峰訊號列表

訊號 (ppm,ppm)	關聯氫原子編號	訊號 (ppm,ppm)	關聯氫原子編號
$\delta(0.88,2.00)$	H1-H2	$\delta(4.22, 7.47)$	H4-H6
$\delta(0.88,2.70)$	H1-H3	$\delta(2.00,10.07)$	H2-H _N
$\delta(2.00, 2.70)$	H2-H3	$\delta(2.00,10.41)$	
$\delta(2.00,4.05)$	H2-H5'	$\delta(2.70, 10.07)$	H3-H _N
$\delta(2.00,4.22)$	H2-H4	$\delta(2.70,10.41)$	
$\delta(2.70, 4.22)$	H3-H4	$\delta(4.05, 10.07)$	H5'-H _N
$\delta(3.50,4.05)$	H5-H5'	$\delta(4.05,10.41)$	
$\delta(3.50,4.22)$	H5-H4	$\delta(4.22, 10.07)$	H4-H _N
$\delta(4.05, 4.22)$	H5'-H4	$\delta(4.22,10.41)$	
$\delta(2.00,7.47)$	H2-H6	$\delta(7.47, 10.07)$	H6-H _N
$\delta(2.70,7.47)$	H3-H6	$\delta(7.47,10.41)$	
$\delta(3.50,6.92)$	H5-H8	$\delta(6.92,7.09)$	H8-H9
$\delta(3.50,7.47)$	H5-H6	$\delta(6.92,7.47)$	H8-H6
$\delta(4.05, 6.92)$	H5'-H8	$\delta(7.34,7.47)$	H7-H6
$\delta(4.22, 6.92)$	H4-H8		

表 34 a-10 HMBC 交叉峰訊號列表

訊號 (ppm,ppm)	氫原子 編號	碳原子 編號	訊號 (ppm,ppm)	氫原子 編號	碳原子 編號
$\delta(0.88,19.5)$	H1	C2	$\delta(4.22,40.8)$	H4	C5
$\delta(0.88,47.8)$	H1	C3	$\delta(6.90,40.8)$	H8	C5
$\delta(2.00,11.4)$	H2	C1	$\delta(7.47,65.5)$	H6	C4
$\delta(2.00,47.8)$	H2	C3	$\delta(6.90,126.7)$	H8	C10
$\delta(2.70,,19.5)$	H3	C2	$\delta(6.90,128.3)$	H8	C11
$\delta(3.50,65.5)$	H5	C4	$\delta(6.90,135.8)$	H8	C13
$\delta(3.50,129.4)$	H5	C9	$\delta(7.09,128.3)$	H9	C11
$\delta(3.50,133.7)$	H5	C12	$\delta(7.09,129.4)$	H9	C9
$\delta(3.50,135.8)$	H5	C13	$\delta(7.09,135.8)$	H9	C13
$\delta(4.05,65.5)$	H5'	C4	$\delta(7.34,128.7)$	H7	C6
$\delta(4.05,129.4)$	H5'	C9	$\delta(7.34,133.7)$	H7	C12
$\delta(4.05,133.7)$	H5'	C12	$\delta(7.47,129.2)$	H6	C7
$\delta(4.05, 135.8)$	H5'	C13	$\delta(7.47,133.7)$	H6	C12

表 35 a-11 氫譜訊號列表

訊號 (ppm)	氫原子編號	積分值	訊號(ppm)	氫原子編號	積分值
$\delta = 0.76$ $\delta = 0.79$	H1	6.30	$\delta = 3.40$	H4	4.10
$\delta = 1.41$	H2	1.00	$\delta = 5.14$	H6	1.01
$\delta = 1.86$	H3	2.12	$\delta = 7.27$	H8	1.76
$\delta = 2.02$	H5	3.98	$\delta = 8.57$	H7	2.03

表 36 a-11 ^{13}C 譜訊號列表

訊號 (ppm)	碳原子編號	級數	訊號 (ppm)	碳原子編號	級數
$\delta = 21.0$ $\delta = 22.6$	C1	一級	$\delta = 24.1$	C2	三級
			$\delta = 39.6$	C3	二級
$\delta = 22.7$	C5	二級	$\delta = 67.0$	C6	三級
$\delta = 53.6$	C4	二級	$\delta = 197.4$	C7	四級
$\delta = 130.1$ $\delta = 131.0$	C8	三級	$\delta = 132.0$	C9	三級
			$\delta = 132.1$		
$\delta = 116.6$ $\delta = 116.7$	C10	三級	$\delta = 166.0$	C11	四級
			$\delta = 168.1$		

表 37 a-11 NOESY 交叉峰訊號列表

訊號 (ppm,ppm)	關聯氫原子編號	訊號 (ppm,ppm)	關聯氫原子編號
$\delta(0.76,1.41)$ $\delta(0.79,1.41)$	H1-H2	$\delta(1.86,3.40)$	H3-H4
		$\delta(1.86,5.14)$	H3-H6
$\delta(0.76,1.86)$ $\delta(0.79,1.86)$	H1-H3	$\delta(2.02,3.40)$	H5-H4
		$\delta(5.14,3.40)$	H6-H4
$\delta(0.76,5.14)$	H1-H6	$\delta(5.14,8.57)$	H6-H7
$\delta(1.41,1.86)$	H2-H3	$\delta(7.27,8.57)$	H8-H7



表 38 a-11 HSQC 交叉峰訊號列表

訊號 (ppm,ppm)	氫原子編號	碳原子編號	訊號 (ppm,ppm)	氫原子編號	碳原子編號
δ(0.76,21.0)	H1	C1	δ(3.40,53.6)	H4	C4
δ(0.79,22.6)	H1	C1	δ(5.14,67.0)	H6	C6
δ(1.41,24.1)	H2	C2	δ(7.27,116.6)	H8	C10
δ(1.86,39.6)	H3	C3	δ(8.57,132.0)	H7	C9
δ(2.02,22.7)	H5	C5			

表 39 a-9 可能代謝物 RIR

採樣時間(hr)	0	1	2	3	4	5	6
a-9-m1	0	0.0247	0.0698	0.148	0.2336	0.3163	0.4734
a-9-m2	0.0556	0.2852	0.1471	0.2652	0.2351	0.2692	0.2668
a-9-m3	0	1.023	0.5915	1.089	1.176	1.396	1.624
採樣時間	7	8	9	10	11	12	
a-9-m1	0.6312	0.8027	1.029	1.210	1.477	2.549	
a-9-m2	0.3496	0.3407	0.3973	0.3266	0.2948	0.9251	
a-9-m3	1.804	2.179	2.289	2.362	2.476	7.001	

表 40 a-9 正控制組 RIR

採樣時間(hr)	0	1	2	3	4	5	6
m/z=225.1398	0.0553	0.0777	0.0406	0.0459	0.0994	0.0654	0.0533
採樣時間	7	8	9	10	11	12	
m/z=225.1398	0.1103	0.0891	0.0593	0.0723	0.1001	0.1270	



表 41 a-10 可能代謝物 RIR

採樣時間(hr)	0	1	2	3	4	5	6
a-10-m1	0.4383	0.2009	0.1730	0.2036	0.1784	0.1341	0.1244
a-10-m2	0.0417	1.288	1.987	2.920	3.624	4.784	5.559
a-10-m3	0.0160	1.034	1.619	2.326	2.968	3.690	4.299
a-10-m4	0.0358	0.7349	0.7669	0.7990	0.8498	0.9587	1.082
a-10-m5	0.0559	0.6792	0.7922	0.7327	0.7359	0.9026	0.9158
a-10-m6	0.0031	0.4727	0.6974	0.9263	1.148	1.469	1.737
a-10-m7	0.1801	2.711	2.712	2.736	2.722	2.816	2.823
a-10-m8	0	0.3481	0.2814	0.334	0.3569	0.374	0.3789
採樣時間	7	8	9	10	11	12	
a-10-m1	0.1999	0.2106	0.2522	0.1637	0.2354	0.3168	
a-10-m2	6.486	7.412	8.420	8.892	9.147	10.60	
a-10-m3	5.006	5.746	6.548	7.276	7.523	8.517	
a-10-m4	1.193	1.201	1.368	1.386	1.429	1.668	
a-10-m5	1.053	1.160	1.165	1.155	1.213	1.342	
a-10-m6	1.985	2.216	2.652	2.798	2.926	3.264	
a-10-m7	2.891	2.898	3.094	3.096	2.902	3.159	
a-10-m8	0.4049	0.4129	0.4400	0.4491	0.4277	0.5190	

表 42 a-10 正控制組訊號 RIR

採樣時間(hr)	0	1	2	3	4	5	6
m/z = 198.1277(RT=7.79)	0.0368	0.0348	0.0709	0.0431	0.0516	0.0534	0.0677
m/z = 256.1696(RT=7.79)	0.0138	0.025	0.0422	0.0364	0.0441	0.0342	0.0432
m/z = 256.1696(RT=7.90)	0.0348	0.0512	0.0396	0.0456	0.0496	0.0502	0.0554
m/z = 26.1696(RT=8.08)	0.0029	0.0029	0.0063	0.0042	0.0058	0.0081	0.0058
採樣時間(hr)	7	8	9	10	11	12	
m/z = 198.1277(RT=7.79)	0.0627	0.0504	0.0746	0.0424	0.0521	0.0797	
m/z = 256.1696(RT=7.79)	0.0401	0.0375	0.0455	0.0452	0.0302	0.0460	
m/z = 256.1696(RT=7.90)	0.0659	0.0472	0.0455	0.0537	0.0306	0.060	
m/z = 256.1696(RT=8.08)	0.0037	0.0045	0.0020	0.0032	0.0054	0.0039	



表 43 a-11 可能代謝物 RIR

採樣時間(hr)	0	1	2	3	4	5	6
a-11-m1	0	0	0.0283	0.0928	0.1762	0.2184	0.3067
a-11-m2	0.0106	0.1423	0.2486	0.3903	0.4384	0.6099	0.6704
a-11-m3	0.1422	0.2520	0.2983	0.3548	0.3866	0.3386	0.4285
a-11-m4	0.0508	0.0877	0.1070	0.0754	0.0868	0.0903	0.0766
a-11-m5	0	0	0	0	0.0021	0.0045	0.0225
a-11-m6	0	0.3571	1.213	2.129	3.042	4.203	5.657
採樣時間(hr)	7	8	9	10	11	12	
a-11-m1	0.4146	0.4224	0.5333	0.6093	0.6506	0.7976	
a-11-m2	0.6658	0.7364	0.8195	0.9109	1.236	1.774	
a-11-m3	0.4675	0.4406	0.4959	0.5410	0.5672	0.5102	
a-11-m4	0.0707	0.1365	0.1122	0.1158	0.1407	0.0969	
a-11-m5	0.0407	0.0578	0.066	0.0903	0.1076	0.1227	
a-11-m6	6.593	8.078	8.898	10.37	9.648	13.26	

表 44 a-11 正控制組 RIR

採樣時間(hr)	0	1	2	3	4	5	6
m/z=280.1707	0.0101	0.0104	0.0124	0.0101	0.2397	0.0121	0.0033
採樣時間	7	8	9	10	11	12	
m/z=280.1707	0.0166	0.0279	0.0166	0.0105	0.0030	0.0150	

表 45 a-9-m1 子離子列表

編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	195.1293	C ₁₁ H ₁₆ FN ₂ ⁺	0.3948	11%
2	175.1231	C ₁₁ H ₁₅ N ₂ ⁺	0.0426	18%
3	109.0452	C ₇ H ₆ F ⁺	1.0000	0%
4	85.0766	C ₄ H ₉ N ₂ ⁺	0.0878	12%
5	83.0297	C ₅ H ₄ F ⁺	0.0050	23%
6	56.0502	C ₃ H ₆ N ⁺	0.0152	15%

表 46 a-9-m3 子離子列表

編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	225.1397	C ₁₂ H ₁₈ FN ₂ O ⁺	1.0000	0%
2	208.1372	C ₁₂ H ₁₇ FN ₂ ⁺	0.5166	3%
3	207.1293	C ₁₂ H ₁₆ FN ₂ ⁺	0.1227	14%
4	180.1063	C ₁₀ H ₁₃ FN ₂ ⁺	0.0056	6%
5	179.098	C ₁₀ H ₁₂ FN ₂ ⁺	0.0228	25%
6	178.1028	C ₁₁ H ₁₃ FN ⁺	0.0179	36%
7	166.1029	C ₁₀ H ₁₃ FN ⁺	0.0310	23%
8	164.0871	C ₁₀ H ₁₁ FN ⁺	0.0500	31%
9	163.0794	C ₁₀ H ₁₀ FN ⁺	0.0034	24%
10	162.0714	C ₁₀ H ₉ FN ⁺	0.0205	13%
11	152.0872	C ₉ H ₁₁ FN ⁺	0.0113	19%
12	151.0792	C ₉ H ₁₀ FN ⁺	0.0548	17%
13	150.0715	C ₉ H ₉ FN ⁺	0.3717	8%
14	149.0636	C ₉ H ₈ FN ⁺	0.0769	28%
15	148.0557	C ₉ H ₇ FN ⁺	0.0164	18%
16	138.0714	C ₈ H ₉ FN ⁺	0.0073	16%
17	137.0637	C ₈ H ₈ FN ⁺	0.3965	8%
18	136.0558	C ₈ H ₇ FN ⁺	0.2867	6%
19	123.0606	C ₈ H ₈ F ⁺	0.0273	23%
20	122.0529	C ₈ H ₇ F ⁺	0.0765	24%
21	109.0452	C ₇ H ₆ F ⁺	0.2315	9%
22	105.0702	C ₈ H ₉ ⁺	0.0049	6%
23	99.0921	C ₅ H ₁₁ N ₂ ⁺	0.0256	24%
24	85.0891	C ₅ H ₁₁ N ⁺	0.0092	20%
25	85.0765	C ₄ H ₉ N ₂ ⁺	0.0214	34%
26	72.0814	C ₄ H ₁₀ N ⁺	0.1474	14%
27	71.0736	C ₄ H ₉ N ⁺	0.0302	19%
28	70.0658	C ₄ H ₈ N ⁺	0.0460	25%
29	60.0815	C ₃ H ₁₀ N ⁺	0.0149	41%
30	59.0171	C ₂ H ₂ FN ⁺	0.0025	1%
31	58.0658	C ₃ H ₈ N ⁺	0.1952	6%
32	57.0581	C ₃ H ₇ N ⁺	0.0053	2%
33	56.0502	C ₃ H ₆ N ⁺	0.0085	44%

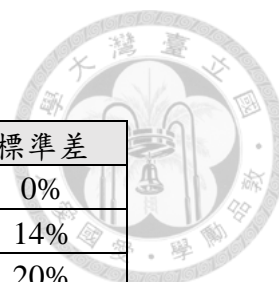


表 47 a-10-m2 子離子列表

編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	181.1010	C ₁₄ H ₁₃ ⁺	1.0000	0%
2	179.0855	C ₁₄ H ₁₁ ⁺	0.0721	14%
3	178.0774	C ₁₄ H ₁₀ ⁺	0.0080	20%
4	166.0776	C ₁₃ H ₁₀ ⁺	0.3196	4%
5	165.0697	C ₁₃ H ₉ ⁺	0.1200	11%
6	153.0698	C ₁₂ H ₉ ⁺	0.0373	27%
7	141.0698	C ₁₁ H ₉ ⁺	0.0141	13%
8	115.0544	C ₉ H ₇ ⁺	0.0041	6%
9	103.0545	C ₈ H ₇ ⁺	0.3197	5%
10	53.0393	C ₄ H ₅ ⁺	0.0025	25%

表 48 a-10-m3 子離子列表

編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	256.1691	C ₁₇ H ₂₂ NO ⁺	0.0308	7%
2	197.0959	C ₁₄ H ₁₃ O ⁺	1.0000	0%
3	195.0803	C ₁₄ H ₁₁ O ⁺	0.0030	39%
4	182.0725	C ₁₃ H ₁₀ O ⁺	0.0290	7%
5	181.0646	C ₁₃ H ₉ O ⁺	0.0093	17%
6	179.0853	C ₁₄ H ₁₁ ⁺	0.0950	5%
7	178.0776	C ₁₄ H ₁₀ ⁺	0.0941	8%
8	169.1015	C ₁₃ H ₁₃ ⁺	0.0146	20%
9	169.0648	C ₁₂ H ₉ O ⁺	0.0021	0%
10	167.0853	C ₁₃ H ₁₁ ⁺	0.0155	8%
11	165.0694	C ₁₃ H ₉ ⁺	0.0023	18%
12	155.0853	C ₁₂ H ₁₁ ⁺	0.0048	34%
13	154.0777	C ₁₂ H ₁₀ ⁺	0.0093	17%
14	141.0697	C ₁₁ H ₉ ⁺	0.0225	17%
15	129.0699	C ₁₀ H ₉ ⁺	0.0045	9%
16	119.0493	C ₈ H ₇ O ⁺	0.6826	4%
17	105.0338	C ₇ H ₅ O ⁺	0.0234	24%
18	104.0624	C ₈ H ₈ ⁺	0.0089	16%
19	103.0545	C ₈ H ₇ ⁺	0.0859	10%
20	91.0546	C ₇ H ₇ ⁺	0.3880	7%
21	79.0547	C ₆ H ₇ ⁺	0.0023	32%
22	69.0341	C ₄ H ₅ O ⁺	0.0051	41%
23	60.0814	C ₃ H ₁₀ N ⁺	0.0741	7%
24	55.0185	C ₃ H ₃ O ⁺	0.0078	20%

表 49 a-10-m4 子離子列表

編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	256.1699	C ₁₇ H ₂₂ NO ⁺	0.0036	1%
2	197.0966	C ₁₄ H ₁₃ O ⁺	1.0000	0%
3	195.0811	C ₁₄ H ₁₁ O ⁺	0.0032	34%
4	182.0731	C ₁₃ H ₁₀ O ⁺	0.0356	12%
5	181.0651	C ₁₃ H ₉ O ⁺	0.0132	27%
6	179.0859	C ₁₄ H ₁₁ ⁺	0.1084	13%
7	178.0781	C ₁₄ H ₁₀ ⁺	0.0979	9%
8	169.1014	C ₁₃ H ₁₃ ⁺	0.0133	33%
9	167.0860	C ₁₃ H ₁₁ ⁺	0.0172	34%
10	155.0860	C ₁₂ H ₁₁ ⁺	0.0041	19%
11	154.0782	C ₁₂ H ₁₀ ⁺	0.0107	12%
12	153.0701	C ₁₂ H ₉ ⁺	0.0038	13%
13	141.0702	C ₁₁ H ₉ ⁺	0.0226	33%
14	129.0703	C ₁₀ H ₉ ⁺	0.0063	24%
15	119.0497	C ₈ H ₇ O ⁺	0.7831	4%
16	105.0341	C ₇ H ₅ O ⁺	0.0234	24%
17	104.0626	C ₈ H ₈ ⁺	0.0090	17%
18	103.0549	C ₈ H ₇ ⁺	0.1084	13%
19	91.0549	C ₇ H ₇ ⁺	0.4160	6%
20	79.0548	C ₆ H ₇ ⁺	0.0036	13%
21	69.0344	C ₄ H ₅ O ⁺	0.0024	17%
22	65.0394	C ₅ H ₅ ⁺	0.0032	9%
23	60.0816	C ₃ H ₁₀ N ⁺	0.1989	12%
24	55.0188	C ₃ H ₃ O ⁺	0.0030	38%

表 50 a-10-m6 子離子列表

編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	256.1692	C ₁₇ H ₂₂ NO ⁺	0.0522	21%
2	181.1009	C ₁₄ H ₁₃ ⁺	1.0000	0%
3	180.0930	C ₁₄ H ₁₂ ⁺	0.0031	13%
4	166.0774	C ₁₃ H ₁₀ ⁺	0.2783	6%
5	165.0697	C ₁₃ H ₉ ⁺	0.0976	17%
6	153.0697	C ₁₂ H ₉ ⁺	0.0287	14%
7	141.0696	C ₁₁ H ₉ ⁺	0.0141	9%
8	115.0542	C ₉ H ₇ ⁺	0.0039	33%
9	103.0545	C ₈ H ₇ ⁺	0.2530	22%
10	76.0762	C ₃ H ₁₀ NO ⁺	0.1309	41%
11	58.0657	C ₃ H ₈ N ⁺	0.0543	7%

表 51 a-11-m2 子離子列表



編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	280.1706	C ₁₆ H ₂₃ FNO ₂ ⁺	0.2783	4%
2	262.1600	C ₁₆ H ₂₁ FNO ⁺	0.3359	10%
3	234.1653	C ₁₅ H ₂₁ FN ⁺	0.0021	11%
4	188.0869	C ₁₂ H ₁₁ FN ⁺	0.0033	36%
5	156.1383	C ₉ H ₁₈ NO ⁺	0.0028	29%
6	149.0760	C ₁₀ H ₁₀ F ⁺	0.0041	39%
7	138.1279	C ₉ H ₁₆ N ⁺	0.0468	22%
8	135.0604	C ₉ H ₈ F ⁺	0.0055	37%
9	123.0243	C ₇ H ₄ FO ⁺	1.0000	0%
10	113.0401	C ₆ H ₆ FO ⁺	0.0172	21%
11	109.0451	C ₇ H ₆ F ⁺	0.0194	23%
12	96.0812	C ₆ H ₁₀ N ⁺	0.0123	19%
13	95.0294	C ₆ H ₄ F ⁺	0.0031	2%
14	75.0233	C ₆ H ₃ ⁺	0.0030	19%
15	71.0498	C ₄ H ₇ O ⁺	0.0262	16%
16	71.0298	C ₄ H ₄ F ⁺	0.0036	17%
17	70.0657	C ₄ H ₈ N ⁺	0.0451	9%
18	51.0237	C ₄ H ₃ ⁺	0.0077	11%

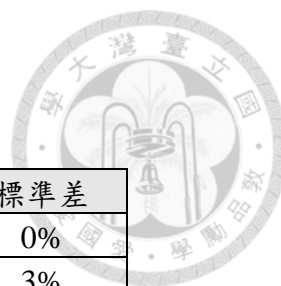


表 52 a-11-m6 子離子列表

編號	子離子 m/z	分子式	強度比	標準差
1	282.1862	C ₁₆ H ₂₅ FNO ₂ ⁺	1.0000	0%
2	264.1755	C ₁₆ H ₂₃ FNO ⁺	0.0603	3%
3	210.1287	C ₁₂ H ₁₇ FNO ⁺	0.0364	6%
4	208.1133	C ₁₂ H ₁₅ FNO ⁺	0.0033	16%
5	204.1183	C ₁₃ H ₁₅ FN ⁺	0.0532	8%
6	193.1023	C ₁₂ H ₁₄ FO ⁺	0.0104	17%
7	192.1181	C ₁₂ H ₁₅ FN ⁺	0.2074	6%
8	191.1104	C ₁₂ H ₁₄ FN ⁺	0.0112	12%
9	190.1027	C ₁₂ H ₁₃ FN ⁺	0.0634	11%
10	189.0949	C ₁₂ H ₁₂ FN ⁺	0.0193	21%
11	188.0871	C ₁₂ H ₁₁ FN ⁺	0.0027	30%
12	176.0868	C ₁₁ H ₁₁ FN ⁺	0.0160	14%
13	175.0917	C ₁₂ H ₁₂ F ⁺	0.0084	16%
14	166.0663	C ₉ H ₉ FNO ⁺	0.0043	25%
15	162.0713	C ₁₀ H ₉ FN ⁺	0.0180	16%
16	160.0682	C ₁₁ H ₉ F ⁺	0.0045	17%
17	151.0552	C ₉ H ₈ FO ⁺	0.0151	31%
18	150.0713	C ₉ H ₉ FN ⁺	0.0243	14%
19	149.0634	C ₉ H ₈ FN ⁺	0.0107	31%
20	148.0557	C ₉ H ₇ FN ⁺	0.0548	5%
21	147.0605	C ₁₀ H ₈ F ⁺	0.0098	17%
22	140.1432	C ₉ H ₁₈ N ⁺	0.0053	26%
23	137.0396	C ₈ H ₆ FO ⁺	0.0231	17%
24	135.06	C ₉ H ₈ F ⁺	0.0029	27%
25	123.0606	C ₈ H ₈ F ⁺	0.0037	21%
26	123.0243	C ₇ H ₄ FO ⁺	0.1090	5%
27	113.0401	C ₆ H ₆ FO ⁺	0.0025	15%
28	109.0451	C ₇ H ₆ F ⁺	0.5329	6%
29	86.097	C ₅ H ₁₂ N ⁺	0.0064	20%
30	73.0654	C ₄ H ₉ O ⁺	0.0840	9%
31	72.0814	C ₄ H ₁₀ N ⁺	0.0044	31%
32	71.0497	C ₄ H ₇ O ⁺	0.0149	20%
33	70.0657	C ₄ H ₈ N ⁺	0.0024	25%
34	57.0706	C ₄ H ₉ ⁺	0.1255	14%
35	55.0549	C ₄ H ₇ ⁺	0.2432	7%
36	55.0186	C ₃ H ₃ O ⁺	0.0029	35%

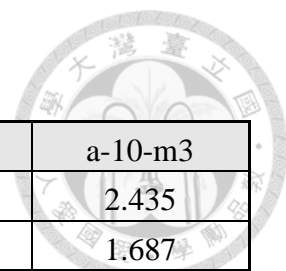


表 53 代謝物經前處理後的 RIR

代謝物	a-9-m1	a-9-m3	a-10-m2	a-10-m3
方法一(控制組)	1.014	0.7651	3.749	2.435
方法六(實驗組)	0.4912	0.2652	2.592	1.687
代謝物	a-10-m4	a-10-m6	a-11-m2	a-11-m6
方法一(控制組)	0.4848	1.080	0.7031	6.031
方法六(實驗組)	0.2984	0.5783	0.3233	2.978

表 54 尿液基質對代謝物 r % 影響

代謝物	G16	G17	G18	平均值	標準差
a-9-m1	79.3%	21.4%	21.9%	40.9%	33.3%
a-9-m3	38.4%	26.2%	23.2%	29.3%	8.1%
a-10-m2	84.8%	145.6%	87.2%	105.8%	34.4%
a-10-m3	95.7%	159.2%	99.7%	118.2%	35.6%
a-10-m4	112.6%	175.8%	100.8%	129.7%	40.3%
a-10-m6	99.5%	170.6%	101.6%	123.9%	40.5%
a-11-m6	101.1%	131.9%	88.4%	107.1%	22.4%