

加酸水解對尿中潘他唑新抽提之影響及其應用

李安榮* 陳聰仁**

* 國防醫學院藥學系

** 臺北科技研究中心

摘要

本研究以氣相層析質譜儀 (GC/MS)，核磁共振譜儀 (NMR) 及紅外光分光光度計 (IR) 深入探討潘他唑新在不同強度之酸性溶液中之水解反應。加酸水解尿中潘他唑新之代謝物之實驗中，發現在 0.5 N 鹽酸溶液中，約有半量之潘他唑新於 120 °C，一小時內進行水合反應。應用此條件可在同一步驟同時鑑別尿中並存之嗎啡及潘他唑新。以潘他唑新及其水合產物之層析圖譜之相對滯留時間為指標，可彌補層析法專一性不足之缺失。水合產物經鑑定其化學結構為 2-[(3-hydroxy-3-methyl) butyl]-5,9-dimethyl-2'-hydroxybenzomorphan，顯示本水合反應之部位選擇性係遵從 Markownikoff 氏法則。IR 光譜證明水合產物支鏈之羥基與胡椒環上之氮原子間形成分子內氫鍵；質譜顯示本品 (分子峰 m/z 303) 經 α 斷裂得基本峰 m/z 230。本法迅速，準確且簡單易行，比例行常用之 β 醛糖酸化物酶水解法更具實用性，且層析圖譜之相對滯留時間指標之專一性極佳。應用於煙毒犯尿水鑑別之案例時，在缺乏其他光譜或質譜分析情況下，仍具有足夠信服之證據。

關鍵詞：潘他唑新、水合反應、Markownikoff 氏法則、酸解。

前言

長久以來，藥物化學家一直嘗試合成理想之鎮痛藥，使其具有嗎啡之鎮痛作用而無成癮性。一九五四年，May 氏等在研究 6,7-Benzomorphan 類之化合物時，合成出潘他唑新 (Pentazocine)¹ (I)。研究結果顯示 20 ~ 30mg 劑量之潘他唑新與 10 mg 之嗎啡具有相等之鎮痛活性²，且對嗎啡之戒斷症狀有輕微之拮抗作用，故在臨床上被廣泛應用。

國內醫學界自引進潘他唑新作為臨床用途後，衛生署雖將本品列為麻醉藥品管制，然檢出潘他唑新之例子仍然很多，顯示潘他唑新之濫用仍甚普遍，嚴重影響社會治安。

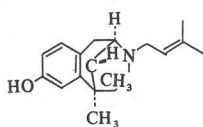
潘他唑新之法定鑑別法計有紫外光分光光度法

³，紅外光分光光度法^{3,4}，及呈色法⁴等。尿中潘他唑新之檢出法甚多，而以 C-18 分離管分離純化，再經氣相層析質譜儀 (GC/MS) 之檢出⁵最為迅速準確，然本法僅檢出尿中未被代謝之潘他唑新，故僅適於定性檢出。Beckett⁶ 氏之研究指出，本品在體內經靜脈注射及口服三十二小時後，仍分別有 8 ~ 24 % 及 3 ~ 15 % 之未代謝之本品被檢出。在四十八小時後，不論給藥方式為何，在糞便中仍發現 0.1 ~ 2 % 之未代謝之潘他唑新。Pittman 及 Davison⁷ 以 β -醛糖酸化物酶水解尿中檢品，計得潘他唑新，及 cis-alcohol, trans-alcohol 及 trans-acid 等代謝物 (結合與未結合)。然對於數目衆多之實際案例之檢品，在限時之要求下，以 β -醛糖酸化物酶進行結合潘他唑新之水解

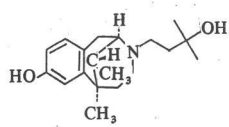
加酸水解抽提尿中潘他啞新

，顯然不切實際，故加酸水解仍為唯一迅速且方便之解離結合潘他啞新之方法。

潘他啞新分子上之二甲丙烯基之雙鍵在酸解之過程中，極可能受到水合反應 (hydration)，形成 3 - 羥基 - 3 - 甲丁基，故可能影響抽提後之分析結果。實際之尿中潘他啞新鑑別中，潘他啞新經加酸水解後，確有受到水合反應而無法正確檢出潘他啞新之例。若欲避免破壞本品而不用加酸水解，則在尿中嗎啡及潘他啞新並存檢品之檢驗，必需將檢品分成二分，分別以二種方法操作。此法不僅費時，且影響檢出率。反之，若能證明潘他啞新在加酸水解時，確因水合反應而形成 2 - [(3 - hydroxy - 3 - methyl) butyl] - 5, 9 - dimethyl - 2' - hydroxybenzomorphan (II)，則吾人不僅可以一步同時鑑別尿中嗎啡及潘他啞新，更可憑藉酸解時水合產物之出現，確認潘他啞新之存在。以潘他啞新及其水合產物之層析圖譜之相對滯留時間為指標，可彌補層析法專一性不足之缺失。應用於煙毒犯尿水鑑別之案例時，在缺乏其他光譜或質譜分析情況下，仍具有足夠信服之證據。然而，若欲潘他啞新與水合產物同時存在檢品中，則吾人所面臨之困難之一為：何種酸解條件下，可解離大部分結合潘他啞新，而又不致使全部潘他啞新因水合反應而形成其水合產物 II。



Pentazocine (I)



2-[(3-Hydroxy-3-methyl)butyl]-5,9-dimethyl-2'-hydroxybenzomorphan (II)

本實驗深入探討潘他啞新經酸解產生水合產物之化學結構，與不同強度之酸解條件對尿中潘他啞新之影響，及此酸解結果在檢出尿中潘他啞新應用。

材料與方法

一、材料：

(一)試藥與原料：潘他啞新為 U S P 級，其餘之試藥均為試藥級純品，且購自德國 E. Merck 公司。

(二)儀器：

1. 氣相層析質譜儀：氣相層析質譜係採用 H P

5895 B GC/MS，附資料處理系統；層析柱為 4 ft × 2 mm ID, 3 % SP-2100 on 80/100 mesh supelcoport；使用攜帶氣體為氮氣；操作溫度：oven 180 ~ 240 °C，programming rate 8 °C/min，injector 250 °C，auxiliary 250 °C；電子槍強度 70 eV，溫度 200 °C；分析器為電四極式，溫度 150 °C；檢測器為電子倍增器。

2. 紅外光分光光譜儀：Perkin-Elmer 580 紅外光分光光譜儀，擇光器為 f5.7，4 grating Littrow type；KBr 片；掃描時間：2 min，橫軸範圍：4000 ~ 400 cm⁻¹。

3. 核磁共振光譜儀：Varian FT-80 A 核磁共振儀，光譜寬：1000 Hz，獲取時間：6 sec.，脈沖寬：80 μsec.，數據點：12,000，transmission offset：47，繪圖寬：800 Hz，繪圖端：89 Hz，圖寬：800 Hz，圖端：89 Hz。

4. 氣相層析儀：HP 5840 GC，附 HP 5840 A GC 終端機，層析柱為 6 ft × 2 mm ID, 3 % OV-225 on 100 ~ 200 WHP，及 50 ft, OV-101 熔合矽毛細管柱，攜帶氣體為氮氣，流速 30 ml/min 及 2 ml/min，操作溫度：injector 250 °C，oven 240 °C，detector 280 °C；檢測器為火焰離子檢測器。

二、實驗方法：

(一) 2 - [(3 - Hydroxy - 3 - methyl) butyl] - 5, 9 - dimethyl - 2' - hydroxybenzomorphan II 之合成——取潘他啞新 (2 g) 置於一 200 - ml 圓底燒瓶，加入蒸餾水 (20 ml)，濃鹽酸 (36.5 %，20 ml) 及沸石數粒，加熱使微沸並迴流二小時，冷卻後小心加入 1 N 氫氧化鈉溶液使成微鹼性，再加入 pH 9.5 緩衝溶液 (5 ml)，溶液以氮仿抽提 (3 × 100 ml)，合併氮仿抽提液，以無水硫酸鎂乾燥，過濾、濾液濃縮至乾得白色粉末狀產品 II。

(二) 尿中檢品之酸解及抽提——取曾經注射潘他啞新之人體所排出之尿水共七份，每份 10 ml，分別置於 250 - ml 錐瓶，以濃鹽酸中和後，再以酸鹼度儀精確測定，調至 pH = 7.0 止，分別加入 8.24, 6.18, 4.12, 2.06, 1.03, 0.52, 0.0 ml 濃鹽酸，加入蒸餾水，使其容積均達 25.0 ml，以棉花將每一盛有尿水之錐瓶塞緊，置於一高壓蒸氣釜中，

於 120 °C 加熱一小時，冷卻後取出尿水檢品，分別置於 250 -ml 分液漏斗，以氯仿抽提 (75ml)，棄去氯仿層，以 1 N 氫氧化鈉溶液中中和後，加入 pH 9.5 之緩衝溶液，再以氯仿抽提 (3 × 75 ml)，合併抽提液，置於水鍋上，以熱風吹乾。殘留物以氯仿 (1 ml) 沖洗出，沖洗液置於 - 2 -ml 之有蓋檢品瓶內，置於熱板上以熱風吹乾。

(二) 尿中潘他唑新及其水合產物之定性及定量——
(一) 中抽提蒸乾後之檢品，分別加入 0.77 mg/ml 內標準可待因 (III) 之甲醇溶液 (400 μl)。另配製 I : II : III = 1 : 1 : 1, 4 : 4 : 1, 6 : 6 : 1, 2 : 2 : 3, 1 : 1 : 3 等五種不同比例濃度之標準溶液。分別取上述五種標準溶液 5.0 μl 及 1.0 μl 注射至填充柱及毛細管柱之注射口，並觀察其氣相層析圖譜，以 I 及 II 之峰高分別除以可待因標準品峰高之值，相對於注入之標準品濃度繪成校正曲線。檢品以 1 μl 及 5 μl 分別注入毛細管柱及填充柱之注射口，觀察每一檢品圖譜之滯留時間、峰高，並與標準品比較，在校正曲線上找出濃度，並與水解時所加之酸量作圖。在 (二) 中以 1 N 鹽酸所作水解 (加入 2.06 ml 鹽酸) 之抽提液，加入內標準可待因之甲醇溶液 (400 μl)，依 (一) 所述步驟，注入氣相層析質譜儀，觀察所得圖譜，在相對於潘他唑新及其水合產物之滯留位置採取質譜圖，並與標準品所得之質譜圖比較之。

結果與討論

潘他唑新 (I) 第二位置上之支鏈上二甲丙烯基上之雙鍵，為最可能受到酸解作用，導致水合反應，產生 3 - 羥基 - 3 - 甲基。依 Markownikoff 氏法則，水中之氫應接於雙鍵二側碳上氫數較多之碳原子上，而氫氧基則連接至另側。質譜顯示潘他唑新之分子峰為 m/z 285，基本峰 m/z 217。由圖一知，潘他唑新分子之胡椒環為一極安定之結構⁷，故整個二甲丙烯基支鏈斷裂，然雙鍵上之一甲基上之氫原子因方位關係，產生轉移 (rearrangement)，故得基本峰 m/z 217。2 之分子峰為 m/z 303，恰為 1 之 M⁺+ 18，亦即多出一水分子。II 之質譜斷裂形式偏向於相對於氮原子之 α - 斷裂，故基本峰為 m/z 230。由圖二之紅外光光譜知，潘他唑新經水合反應後，其反應產物 II 之氫氧

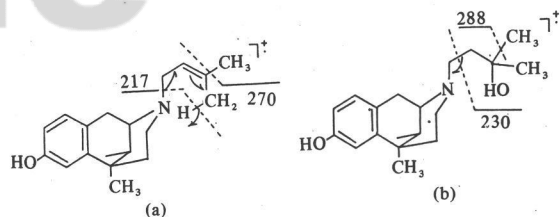


Fig. 1. Fragmentation patterns of pentazocine (a) and its hydration product (b).

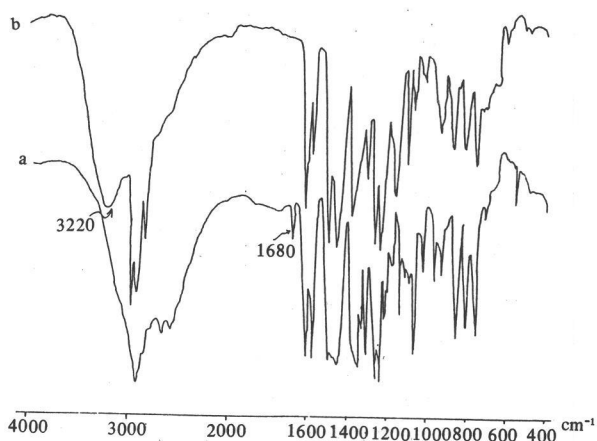


Fig. 2. Infrared spectrum of pentazocine (a) and its hydration product (b).

基在 (b) 圖上顯示 3220 cm⁻¹ 之紅外光吸光頻率，證明此一氫氧基與氮原子形成安定之分子內氫鍵 (一般未產生氫鍵之游離氫氧基之振動頻率在 3640 ~ 3610 cm⁻¹)。 (a) 之 1680 cm⁻¹ 帶為三取代雙鍵之振動頻率，而在 (b) 中並未發現此區域有任何明顯帶產生，證實雙鍵已被水合。由圖三 (a) 磁譜顯示潘他唑新之二甲丙烯基雙鍵之氫質子峰，在 δ 5.27 被鄰接之甲基上二質子偶合而形成一組三重峰，經水合反應後 (圖三之 (b))，因雙鍵之水合作用，在原位置之三重峰消失，原二甲丙烯基支鍊上之二甲基則因水合反應，使雙鍵飽和後，碳上之二甲基峰由 δ 1.70 及 δ 1.75 移至高磁場區 (δ 1.25)，然此二甲基因方位關係，在磁譜中仍可辨出化學移差之差異。

實驗方法 (一) 所合成之水合產物 II 與潘他唑新 () 及內標準可待因之混合物，以毛細管柱及填充柱氣相層析圖如圖四所示。其滯留時間分別為 20.77, 15.64, 19.44 分及 8.85, 4.00 及 6.76 分，

加酸水解抽提尿中潘他唑新

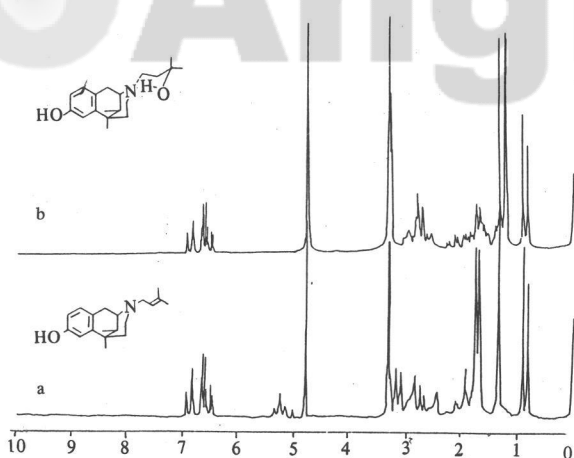


Fig. 3. 100 M Hz NMR spectrum of pentazocine (a) and its hydration product (b).

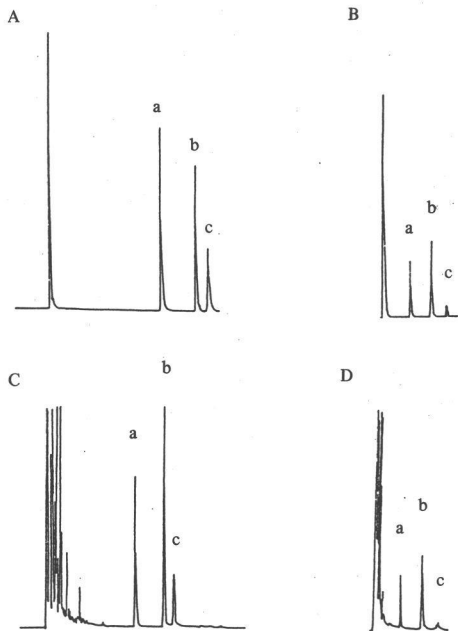


Fig. 4. Gas chromatograms obtained from the standard mixture and from the urine hydrolysates. Key: (A), (C), capillary column chromatograms. (B), (D), packed column chromatograms. (a) pentazocine, (b) codeine, (c) hydration product of pentazocine.

故分離效果以毛細管柱較佳，選擇可待因當內標準亦甚合適，因可待因含一氫氧基，出現於潘他唑新與水合產物 II 間。另以不同濃度之標準品濃度所繪得之校正曲線，顯示線性關係極佳（圖五）。

以尿水抽提分離所得檢品，經氣相層析結果，與標準品層析圖譜比較（圖四、五），可證明潘他

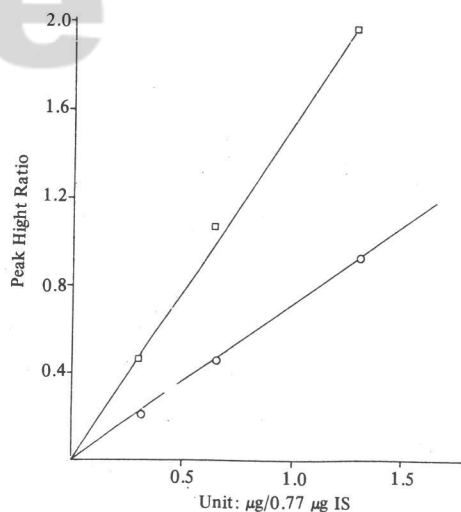


Fig. 5. Calibration curve for pentazocine (□) and its hydration product (○).

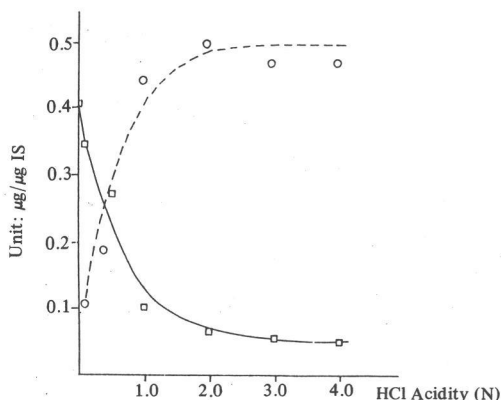


Fig. 6. Hydration curves showing the hydration of pentazocine (□) and the appearance of the hydration product (○) as a function of acidity of hydrochloric acid.

唑新及其水合產物之存在。為了更進一步證明圖四之 C 峰確為作者所預計之水解產物 II，再以氣相層析質譜儀分析此檢品，所得質譜與標準品之質譜比較，發現二者完全吻合，故作者推斷之結果，極為正確。

以不同強度之酸溶液進行之水解反應，經分析後，計算其中所含潘他唑新及其水合產物之含量，相對於酸強度之關係如圖六所示。酸之強度在 1 N 以上，則尿中大部分之潘他唑新被水合而形成其水合產物；在 0.5 N 之酸溶液中，則可見約有半量之潘他唑新進行水合作用。因潘他唑新之水合產物 II 之氣相層析上之火焰離子反應較潘他唑新為弱，故其校正曲線之斜率較小，故欲在氣相層析圖譜上顯

示出與潘他啞新相當之峰強度，則其量應比潘他啞新為大。實驗結果顯示，酸強度在0.5~1 N間之水解反應，所產生之潘他啞新與其水合產物在氣相層析圖(FID)上最易辨識。

結 論

潘他啞新水合產物 II 存在於酸解之尿水中，不僅不致影響吾人對潘他啞新之檢驗，相反地，由於對其正確之結構及在GC, TLC, GC/MS, NMR, IR等分析儀器上特殊之數據，更能使吾人在分析這類案件中，增加更多可靠之資料。尤在例行鑑別尿水案件中，由於數量繁多，不可能每一檢品皆經數種儀器鑑定，只能以薄層分析或氣相層析作此篩驗，而此水合產物之存在與其在圖譜上相對於潘他啞新之位置為指標，不僅提增檢出結果之可靠性，亦節省大量時間與人力，使分析鑑別得以迅速完成。

參考文獻

1. May, E. L. and L. J. Sargent. 1965. In *Analgesics*, Vol. 5, pp. 171-172. (Stevens G. ed.) Academic Press, New York - London.
2. Sterling-Wintrop Research Laboratories brochure and references cited therein.
3. The United States Pharmacopeial Convention, Inc. 1985. The United States Pharmacopeia, 21th Revision, p. 803. Rockville, Maryland.
4. British Pharmacopeia Commission. 1980. British Pharmacopeia, p. 330. Her Majesty's Stationery Office, London, England.
5. 施多喜. 1984. 刑事科學, 17期, 第1頁.
6. Beckett, A. H., J. F. Taylor and P. Kouronakis, 1970. *J. Pharm. Pharmacol.*, 23, 123.
7. Pittman, K. A. and C. Davison. 1973. *J. Pharm. Sci.*, 62, 765.

INFLUENCE OF ACID HYDROLYSIS ON EXTRACTION OF URINARY PENTAZOCINE

AN-RONG LEE** AND CHONG-JEN CHEN**

*National Defense Medical Center, School of Pharmacy, Taipei, Taiwan, R.O.C.

**Scientific and Technical Research Center, Taipei, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

An extensive study on the influence of acid hydrolysis on the extraction of urinary pentazocine as well as its potential applications to forensic cases was described. The optimum conditions for aqueous hydrolysis of the pentazocine metabolites in urine samples were established. The structure of the hydration product, $M^+ 303$,

was fully characterized by GC/MS, NMR and IR spectroscopy. The hydration of pentazocine was proceeded and completely directed by the Markownikoff's rule. Guided by the relative retention times, the technique would permit the rapid and simple identification of this abused drug when it is encountered as an unknown in forensic cases.