

摘要

本論文提出一項新的分析技術，以分散式液液微萃取法結合基質輔助雷射脫附游離飛行質譜儀，對強心配醣體進行鑑定分析。利用分散式液液微萃取技術，可以同時達到萃取與濃縮分析物的效果，將萃取劑(二碘甲烷)與分散劑(四氫呋喃)，快速注入樣品溶液中，形成混濁狀的溶液，此時分析物通過分散劑被萃取至萃取劑中，經由離心將沉積相分離，取出離心管底部的沉積液並且與 α -CHCA 基質溶液混合，經過乾燥以後，利用基質輔助雷射脫附游離飛行質譜法，進行分析物的偵測。實驗中探討萃取劑的種類與體積、分散劑的種類與體積、萃取時間、離心時間、樣品 pH 值等因素對於實驗結果的影響，在最佳化的實驗條件下，所得到的分析物檢量線，濃度線性範圍為 0.01 μ M 至 1 μ M；相關係數 (R^2) 約在 0.99 以上；對於長葉毛地黃毒苷的偵測極限，可以達 2.1 nM。此外，將此分析方法應用於人體尿液樣品的偵測，可成功地檢測出強心配醣體藥物成份。

關鍵詞：分散式液液微萃取法、雷射脫附游離飛行時間質譜儀、強心配醣體、萃取劑、分散劑。

英文摘要

This study is raised a new analytic skill. Cardiac glycosides were determined by a novel dispersive liquid-liquid microextraction method coupled with MALDI-TOF MS that can obtain the effect of extraction and condensed sample. The appropriate mixture of extraction solvent (CH_2I_2) and dispersive solvent (THF) was rapidly injected into a sample solution. It formed a cloudy solution which and cardiac glycosides were extracted into the extraction solvent by the dispersive solvent. After centrifugation, the sediment solvent was mixed with α -CHCA before determined by the MALDI-TOF MS. Several important experimental conditions, such as extraction time, centrifugation time, pH value, the kind and the volume of extraction solvents, dispersive solvent, were investigated. Under the optimal conditions, our experiment results showed a linear calibration curve in the concentration ranged from $0.01 \mu\text{M}$ to $1 \mu\text{M}$ with a correlative coefficient approximately (R^2) 0.99 above and the limit of detection for a standard solution of digitoxin was 2.1 nM. In addition, this method had been successfully applied for the analysis of cardiac glycosides in human urine.

Keywords: dispersive liquid-liquid microextraction method, MALDI-TOF MS, Cardiac Glycoside, extraction solvent, dispersive solvent

目錄

摘要.....	I
英文摘要.....	II
目錄.....	III
圖目錄.....	VI
表目錄.....	VIII
壹、緒論.....	1
1.1. 前言.....	1
1.2. 強心配醣體介紹.....	2
1.2.1. 藥理作用.....	4
1.2.2. 相關文獻回顧.....	6
1.3. 常用的萃取法簡介.....	9
1.3.1. 固相微萃取法.....	11
1.3.2. 單滴微萃取法.....	11
1.3.3. 超臨界流體萃取法.....	12
1.3.4. 分散式液液微萃取法.....	13
1.4. 基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀簡介.....	17
1.4.1. 基質輔助雷射脫附游離法的發展史.....	17

1.4.2. 基質的特性與功能.....	19
1.4.3. 基質輔助雷射脫附游離法樣品製備方式.....	22
1.4.4. 基質輔助雷射脫附游離法離子形成機制.....	24
1.4.5. 飛行時間質量分析器的原理與構造.....	28
1.4.6. 基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀的優點.....	33
1.5. 研究動機.....	36
貳、材料與方法.....	37
2.1. 化學藥品.....	37
2.2. 儀器設備.....	39
2.3. 樣品配製.....	40
2.4. 分散式液液微萃取參數.....	41
2.5. 質譜儀操作條件.....	43
參、結果與討論.....	45
3.1. 基質選擇與樣品製備.....	45
3.1.1. 最佳基質.....	45
3.1.2. 緩衝溶液.....	48
3.1.3. 以 seed-layer 方式製備樣品.....	50
3.2. 分散式液液微萃取法的最佳實驗條件.....	52
3.2.1. 萃取劑的選擇.....	52

3.2.2. 分散劑的選擇.....	54
3.2.3. 萃取劑的體積.....	57
3.2.4. 分散劑的體積.....	60
3.2.5. 萃取時間.....	63
3.2.6. 離心時間.....	67
3.2.7. 樣品溶液的 pH 值.....	69
3.2.8. 分散式液液微萃取最佳條件.....	72
3.3. 標準溶液的檢量線與偵測極限.....	75
3.4. 生化樣品的檢測.....	77
3.4.1. 尿液樣品的前處理.....	77
3.4.2. 尿液樣品的檢量線與偵測極限.....	79
肆、結論.....	81
伍、參考文獻.....	82

圖目錄

圖 1：Digitoxin 的化學結構圖.....	5
圖 2：Digoxin 的化學結構圖.....	5
圖 3：Lanatoside C 的化學結構圖.....	6
圖 4：分散式液液微萃取流程示意圖.....	15
圖 5：基質輔助雷射脫附游離法的離子化示意圖.....	24
圖 6：直線型與反射型的飛行時間質譜儀.....	31
圖 7：MALDI plate.....	35
圖 8：基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀.....	43
圖 9：以不同的基質測量強心配醣體化合物所獲得的質譜圖.....	46
圖 10：以 NaH_2PO_4 緩衝溶液配製強心配醣體混合物標準溶液所測得 質譜圖.....	48
圖 11：樣品與基質溶液在樣品盤上以 seed-layer 方式配製結晶後所獲 得的影像圖.....	51
圖 12：萃取劑對於訊號增強係數的影響.....	54
圖 13：分散劑對於訊號增強係數的影響.....	56
圖 14：萃取劑體積對訊號增強係數的影響.....	59
圖 15：萃取劑體積與沉積液體積關係圖.....	59

圖 16：分散劑體積對於訊號增強係數的影響.....	61
圖 17：分散劑體積與沉積液體積關係圖.....	62
圖 18：分散劑體積與樣品回收率的影響.....	62
圖 19：萃取時間對於訊號增強係數的影響.....	65
圖 20：萃取時間對於分析物濃縮倍率的影響.....	65
圖 21：萃取時間對沉積液體積的影響.....	66
圖 22：萃取時間對分析物回收率的影響.....	66
圖 23：離心時間對沉積液體積之影響.....	68
圖 24：離心時間對樣品回收率的影響.....	68
圖 25：樣品溶液的 pH 值對訊號增強係數的影響.....	70
圖 26：樣品溶液的 pH 值對樣品回收率的影響.....	71
圖 27：強心配醣體混合溶液經過 DLLME 萃取後所測得的質譜 圖.....	74
圖 28：強心配醣體標準溶液的檢量線.....	76
圖 29：尿液樣品經過樣品前處理所測得的質譜圖.....	78
圖 30：尿液樣品中強心配醣體的檢量線.....	80

表目錄

表 1：強心配醣體化合物化學結構.....	3
表 2：常見的萃取方式比較.....	10
表 3：常見的有機酸基質.....	20
表 4：基質輔助雷射脫附游離飛行時質譜儀的設定參數.....	44
表 5：分散式液液微萃取的最佳實驗條件.....	73