

摘要

胺基配醣體類抗生素(Aminoglycoside Antibiotics)通常用來治療革蘭氏陰性菌和陽性菌所引起的系統性感染，但是當用量過多時也帶來了耳毒性與腎毒性等副作用的產生，因此密切監控病人體內的血中濃度以避免副作用的發生是必要的。

本研究將金銀核殼奈米粒子(簡稱 Au@AgNPs)的表面上修飾檸檬酸根形成帶負電之探針，有選擇性地從水溶液中來捕捉和濃縮帶正電之胺基配醣體類抗生素，直接以基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜法(MALDI-TOF MS)進行分析，且 Au@AgNPs 本身可當作基質，因此不會有一般傳統有機基質造成低分子量訊號干擾的問題，此分析方法具有快速、簡單、可大量分析、操作容易、高靈敏度和解析度等特點。此分析方法成功地應用於血漿樣品中胺基配醣體類抗生素之分析，其 Paromomycin、Neomycin、Kanamycin A、Gentamicin 偵測極限(S/N=3)分別為 9 nM、81 nM、130 nM、180 nM。而回收率在 76.5~81.7%之間，其相對標準偏差(RSD)在 6.7%之內。

謝誌

畢業的季節終於來臨了，也代表了研究所生涯到了一個句點，研究期間多虧了指導老師張玉珍教授在研究上的教導，使我成長了不少，也學習到了很多生活上該有的態度，在此我表達最深的謝意。

我要感謝我的口試委員黃承文教授、江旭禎教授、王崇人教授，在百忙之中抽空並且提供珍貴的意見，讓本論文能夠更完整。

研究所的夥伴阿聰、偲嘉、小古、學弟妹晏祥、貴媚、宛靜、汶陵及高中三人幫阿加、宗仔、阿蔡，謝謝你們總在我最失意時安慰我，使我有勇氣克服困難，解決實驗上的問題。另外，要感謝中正大學劉明翰同學提供奈米粒子的知識和專有名詞。

最後當然要謝謝我的母親林月琴女士和父親王慶祥男士，永遠鼓勵我不要放棄，姐姐王虹雯及弟弟王文程帶給我很多的關心，使我終於將學業完成，也希望我在未來的旅程能夠一切順心。

目錄

中文摘要.....	I
謝誌.....	II
目錄.....	III
圖目錄.....	VI
表目錄.....	VIII
壹、緒論.....	1
一、前言.....	1
二、基質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜法.....	2
2-1 MALDI 發展史.....	2
2-2 MALDI 樣品製備方式.....	4
2-3 基質的特性與功用.....	5
2-4 MALDI 離子形成機制探討.....	8
2-5 飛行時間(TOF)質量分析器的原理.....	12
2-6 MALDI-TOF MS 的優勢.....	16
2-7 MALDI 中抑制現象之解決方法.....	18
2-8 奈米粒子在 MALDI 中的應用.....	19
三、胺基配醣體類抗生素藥理性質與分析方法.....	25

3-1 胺基配醣體類抗生素藥理性質簡介.....	25
3-2 血中濃度監測.....	29
3-3 過去分析方法比較.....	30
四、研究動機.....	34
貳、實驗.....	36
一、藥品.....	36
二、儀器設備.....	38
三、實驗方法.....	39
3-1 藥品配製.....	39
3-2 樣品盤(target)清洗步驟.....	40
3-3 血漿樣品的前處理與製備.....	40
3-4 MALDI 樣品的製備.....	41
3-5 Au@AgNPs 的製備與表面修飾.....	41
3-6 Au@AgNPs 為探針之實驗.....	42
3-7 質譜儀操作條件.....	43
參、結果與討論.....	44
一、奈米粒子.....	44
二、基質的選擇.....	47
2-1 基質背景訊號的探討.....	47

2-2 分析物的離子訊號.....	49
三、以 Au@AgNPs 萃取 aminoglycoside 條件最佳化.....	51
3-1 攪拌方式.....	51
3-2 攪拌時間.....	53
3-3 Au@AgNPs 的量.....	55
3-4 緩衝溶液.....	57
3-5 pH 值之探討.....	61
3-6 Au@AgNPs 萃取後之清洗.....	65
四、檢量線的製作.....	69
4-1 再現性的探討.....	69
4-2 檢量線及偵測極限.....	70
五、血漿中胺基配醣體類抗生素的分析.....	74
5-1 直接分析.....	74
5-2 血漿樣品前處理.....	76
5-3 血漿中的校正曲線.....	80
六、回收率的探討.....	83
肆、結論與未來展望.....	85
參考文獻.....	86

圖目錄

圖(一)直線型和反射型TOF.....	14
圖(二) Microflex target.....	18
圖(三)金奈米粒子利用靜電作用力作為捕捉探針.....	21
圖(四)以Au@AgNPs為探針來捕捉分析物之實驗流程圖.....	42
圖(五)TEM粒徑分佈圖.....	45
圖(六)UV-Vis 光譜圖.....	45
圖(七)Au@AgNPs 捕捉胺基配醣體類抗生素之機制圖.....	46
圖(八)基質背景訊號的質譜圖.....	48
圖(九) Paromomycin 與各式基質游離化之質譜圖.....	50
圖(十) Paromomycin 與 Au@AgNPs 不同攪拌方式的質譜圖.....	52
圖(十一)不同攪拌時間對分析物訊號的影響.....	54
圖(十二)不同 Au@AgNPs 添加量對分析物訊號的影響.....	56
圖(十三)Paromomycin 與 Au@AgNPs 不同溶劑配製之質譜圖.....	58
圖(十四)五種胺基配醣體類抗生素混合溶液之質譜圖.....	60
圖(十五)不同 pH 值對分析物訊號的影響.....	64
圖(十六) Au@AgNPs 萃取後之清洗對分析物訊號的影響.....	66
圖(十七)Paromomycin 與 Au@AgNPs 萃取前後之差異.....	68
圖(十八)Paromomycin 於低濃度偵測之質譜圖.....	73

圖(十九)將 Neomycin 添加於未前處理血漿中之質譜圖.....	75
圖(二十)將血漿樣品與 Acetonitrile 以不同比例混合之質譜圖.....	77
圖(二十一)四種胺基配醣體類抗生素於血漿中之混合溶液質譜圖...	79
圖(二十二) 添加低濃度 Paromomycin 於血漿中偵測之質譜圖.....	82

表目錄

表(一)常見 MALDI 基質與相對應雷射吸收波長.....	7
表(二)本實驗中胺基配醣體類抗生素的結構式.....	26
表(三)近年來 HPLC 方法分析胺基配醣體類抗生素.....	31
表(四)胺基配醣體類抗生素分析方法比較.....	33
表(五) MALDI TOF MS 操作參數設定.....	43
表(六)本實驗中胺基配醣體類抗生素之 pka 值.....	61
表(七)雙因子變異數分析：無重覆實驗(ANOVA).....	71
表(八)標準品檢量線與偵測極限.....	72
表(九)血漿中胺基配醣體類抗生素檢量線與偵測極限.....	81
表(十)胺基配醣體類抗生素於血漿樣品中之回收率.....	84