【19】中華民國　　【12】專利公報　（B）

【11】證書號數：I532992
【45】公告日： 中華民國 105 (2016) 年 05 月 11 日
【51】Int. Cl.：　*G01N33/15 (2006.01)*　*G01N33/50 (2006.01)*
A61K31/19 (2006.01)　*H01J49/34 (2006.01)*
發明　全 5 頁

【54】名　稱：丙戊酸及其代謝物的量測方法及其系統
METHOD AND SYSTEM FOR MEASURING VALPROIC ACID AND METABOLIC PRODUCT THEREOF

【21】申請案號：102129354　【22】申請日： 中華民國 102 (2013) 年 08 月 15 日
【11】公開編號：201506403　【43】公開日期： 中華民國 104 (2015) 年 02 月 16 日

【72】發 明 人： 呂濟宇 (TW) LU, CHI YU；吳俊毅 (TW) WU, CHUN YI
【71】申 請 人： 高雄醫學大學　KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY
高雄市三民區十全一路 100 號
【74】代 理 人： 林文杰

【56】參考文獻：
Zhong Y, Jiao Z, Yu Y, ″ Simultaneous determination of mycophenolic acid and valproic acid based on derivatization by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection”, Biomed Chromatogr. , 2006, Vol.20, page 319-326。
Cheng H, Liu Z, Blum W, Byrd JC, Klisovic R, Grever MR, Marcucci G, Chan KK, ″ Quantification of valproic acid and its metabolite 2-propyl-4-pentenoic acid in human plasma using HPLC-MS/MS”, J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci., 2007, Vol.850, page 206-212。
Hanna Mazura , Alicja Kosakowska, Ksenia Pazdro, ″ Determination of indole-3-acetic acid in the Gulf of Gdańsk by high-performance liquid chromatography of its 4-methyl-7-methoxycoumarin derivative”, Journal of Chromatography, 1997, Vol.766, page 261-266。
Liu H, Montoya JL, Forman LJ, Eggers CM, Barham CF, Delgado M, ″Determination of free valproic acid: evaluation of the centrifree system and comparison between high-performance liquid chromatography and enzyme immunoassay”, Ther Drug Monit., 1992, Vol.14, page 513-521。

審查人員：張榮興

[57]申請專利範圍

1. 一種丙戊酸及其代謝物的量測方法，其係由以下步驟所量測：(a)提供一含有丙戊酸或丙戊酸代謝物之樣本；(b)進行該樣本之前處理；(c)利用一溶劑萃取分離出該樣本中的丙戊酸或丙戊酸代謝物，以得到一萃取物；(d)提供一內部標準品，並加入該萃取物中，其中該內部標準品為丙戊酸同位素或丙戊酸代謝物同位素；(e)將一衍生反應試劑加入該萃取物，並加熱進行化學衍生反應，以得到一含有具衍生反應試劑標記的產物之衍生溶液，其中該具衍生反應試劑標記的產物包含具衍生反應試劑標記的丙戊酸、具衍生反應試劑

標記的丙戊酸代謝物或具衍生反應試劑標記的內部標準品；及(f)利用基質輔助雷射脫附游離法及質量分析器以分析測定該衍生溶液，並利用該具衍生反應試劑標記的內部標準品計算丙戊酸或丙戊酸代謝物的含量。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之量測方法，其中該樣本為血液樣本或藥品樣本。
3. 如申請專利範圍第 2 項所述之量測方法，其中該血液樣本之該前處理為：將該血液樣本離心以分離出血球部份及血清部份；及取出該血清部份並與一酸性溶液混合進行酸化而得到一待測樣本。
4. 如申請專利範圍第 3 項所述之量測方法，其中該酸性溶液為磷酸、鹽酸 或硫酸。
5. 如申請專利範圍第 2 項所述之量測方法，其中該藥品樣本之該前處理為：將該藥品樣本研磨至細粉狀。
6. 如申請專利範圍第 1 項所述之量測方法，其中該溶劑為正己烷、甲苯、二氯甲烷或乙腈。
7. 如申請專利範圍第 1 項所述之量測方法，其中該衍生反應試劑為 4-溴甲基-6,7-二甲氧基香豆素(BrDMC)或 4-溴甲基-7-甲氧基香豆素(BrMMC)。
8. 如申請專利範圍第 7 項所述之量測方法，其中該衍生反應試劑的濃度範圍為 0.25-5mM。
9. 如申請專利範圍第 1 項所述之量測方法，其中該丙戊酸同位素為 d_6-丙戊酸。
10. 如申請專利範圍第 1 項所述之量測方法，其中該質量分析器為飛行式時間質量分析器、四極棒質量分析器、離子阱質量分析器、傅立葉轉換質量分析器。
11. 如申請專利範圍第 1 項所述之量測方法，其中該丙戊酸代謝物包含 2-丙基-4-戊烯酸(4-ene VPA)、2-丙基-3-羥基戊烯酸(3-OH 丙戊酸)、2-丙基-4-羥基戊烯酸(4-OH 丙戊酸)、2-丙基-5-羥基戊烯酸(5-OH 丙戊酸)、2-丙基-2-戊烯酸(2-ene VPA)、2-丙基-3-戊烯酸(3-ene VPA)、2-丙基-3-酮基戊烯酸(3-keto VPA)或 2-丙基-4-酮基戊烯酸(4-keto VPA)、2,4 二烯丙戊酸(2,4-diene VPA)。
12. 如申請專利範圍第 1 項所述之量測方法，其中於步驟(d)中可另將活化劑 及/或催化劑加入該萃取物中。
13. 如申請專利範圍第 12 項所述之量測方法，其中該活化劑為碳酸鉀或碳酸氫鉀；該催化劑為 1,4,7,10,13,16-六氧雜環十八烷。
14. 如申請專利範圍第 13 項所述之量測方法，其中該活化劑的濃度範圍為 0.5-6 毫克；該催化劑的濃度範圍為 0.01-25mM。
15. 一種用於量測丙戊酸及其代謝物之系統，其包含：一內部標準品，其為丙戊酸同位素或丙戊酸代謝物同位素；一衍生反應試劑，用以在化學衍生反應中標記丙戊酸、丙戊酸代謝物或內部標準品；一加熱器，用以加熱進行化學衍生反應；一基質，其可吸收波長 330-360nm 雷射光束，其中該基質為 α-氰基-4-羥基桂皮酸、二羥基苯甲酸或 3,5-二甲氧基-4-羥基桂皮酸；一雷射光源，用以發射一雷射光；及一質量分析器，用以分析測定樣本中丙戊酸或丙戊酸代謝物的含量。
16. 如申請專利範圍第 15 項所述之系統，其中該衍生反應試劑為 4-溴甲基-6,7-二甲氧基香豆素(BrDMC)或 4-溴甲基-7-甲氧基香豆素(BrMMC)。
17. 如申請專利範圍第 15 項所述之系統，其另包含一活化劑及/或一催化劑。
18. 如申請專利範圍第 17 項所述之系統，其中該活化劑為碳酸鉀或碳酸氫鉀；該催化劑為 1,4,7,10,13,16-六氧雜環十八烷。
19. 一種用於量測丙戊酸及其代謝物之套組，其包含：一內部標準品，其包含丙戊酸同位素或丙戊酸代謝物同位素；一衍生反應試劑，其用以在化學衍生反應中標記丙戊酸、丙戊

酸代謝物 或內部標準品，該衍生反應試劑為 4-溴甲基-6,7-二甲氧基香豆素(BrDMC)或 4-溴甲基-7-甲氧基香豆素(BrMMC)；及一基質，其可吸收波長 330-360nm 雷射光束，該基質為 α-氰基-4-羥基桂皮酸、二羥基苯甲酸或 3,5-二甲氧基-4-羥基桂皮酸。

20. 如申請專利範圍第 19 項所述之套組，其另包含一活化劑及/或一催化劑。
21. 如申請專利範圍第 19 項所述之套組，其另包含一加熱器，用以加熱進行化學衍生反應。
22. 如申請專利範圍第 19 項所述之套組，其另包含一質量分析器，用以分析測定樣本中丙戊酸或丙戊酸代謝物的含量。

圖式簡單說明

圖 1 為本發明的化學衍生反應流程圖。

圖 2 為本發明量測丙戊酸及其代謝物的化學衍生反應步驟過程。

圖 3 為丙戊酸血液檢量線。

圖 4 為 2-丙基-4-戊烯酸血液檢量線。

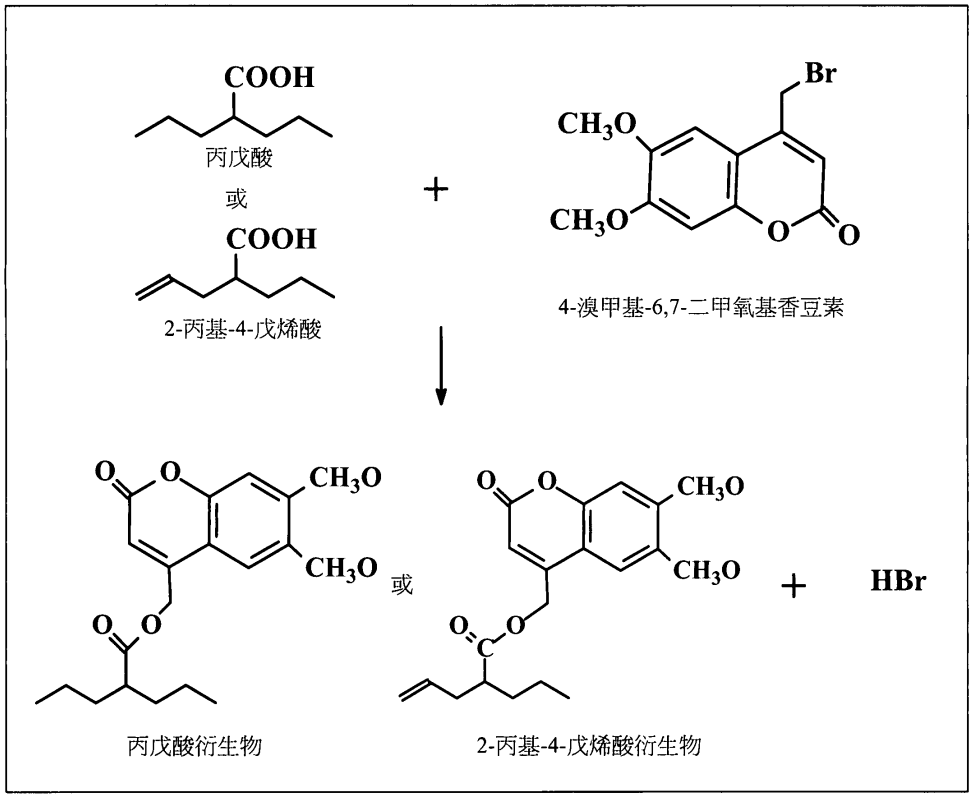

圖 1

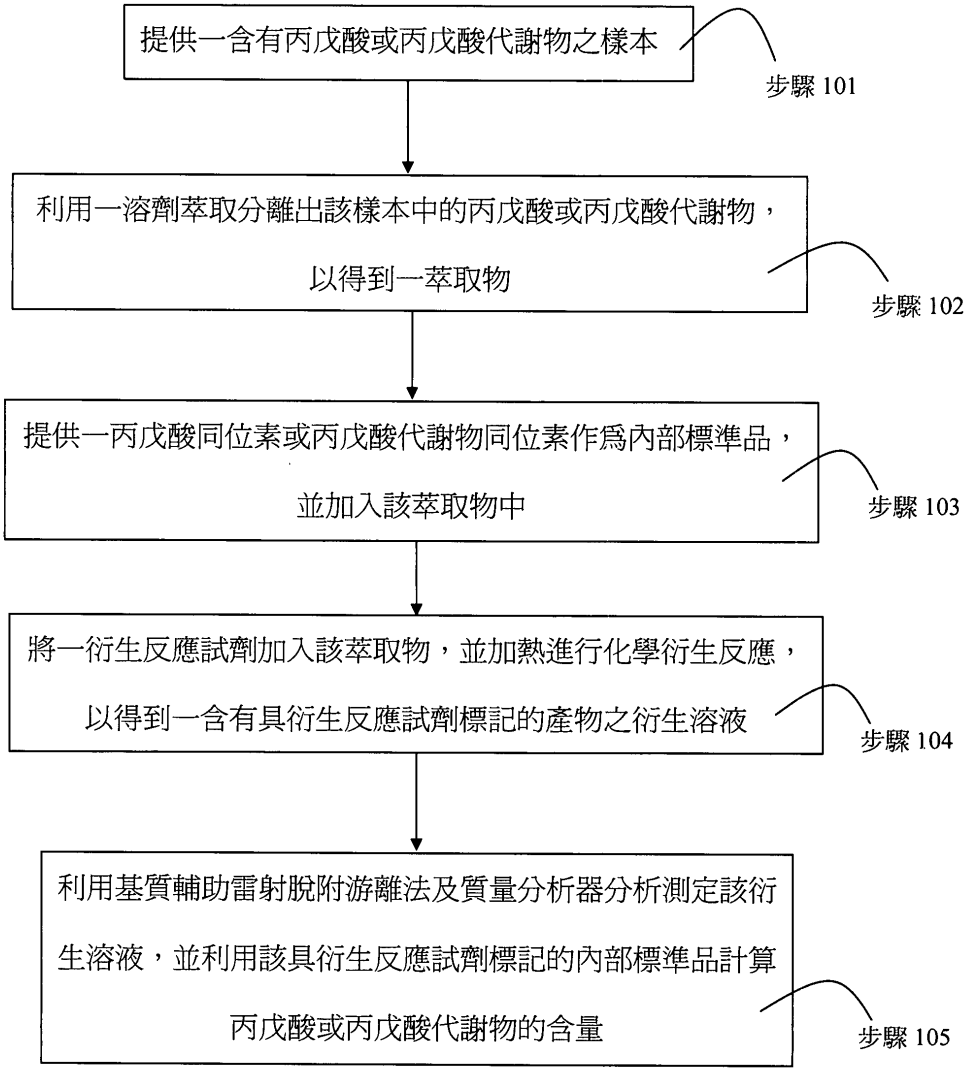
提供一含有丙戊酸或丙戊酸代謝物之樣本
步驟 101
利用一溶劑萃取分離出該樣本中的丙戊酸或丙戊酸代謝物，以得到一萃取物
步驟 102
提供一丙戊酸同位素或丙戊酸代謝物同位素作爲內部標準品，並加入該萃取物中
步驟 103
將一衍生反應試劑加入該萃取物，並加熱進行化學衍生反應，以得到一含有具衍生反應試劑標記的產物之衍生溶液
步驟 104
利用基質輔助雷射脫附游離法及質量分析器分析測定該衍生溶液，並利用該具衍生反應試劑標記的內部標準品計算丙戊酸或丙戊酸代謝物的含量
步驟 105

圖 2

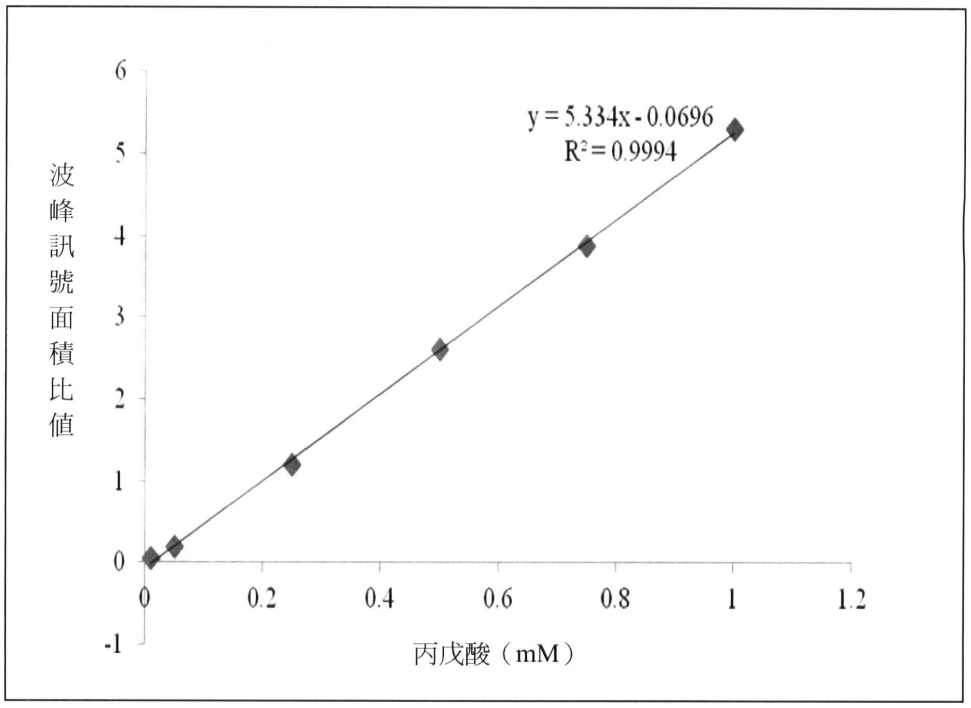
y = 5.334x - 0.0696
R² = 0.9994
波峰訊號面積比值
丙戊酸（mM）
6
5
4
3
2
1
0
-1
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2

圖 3

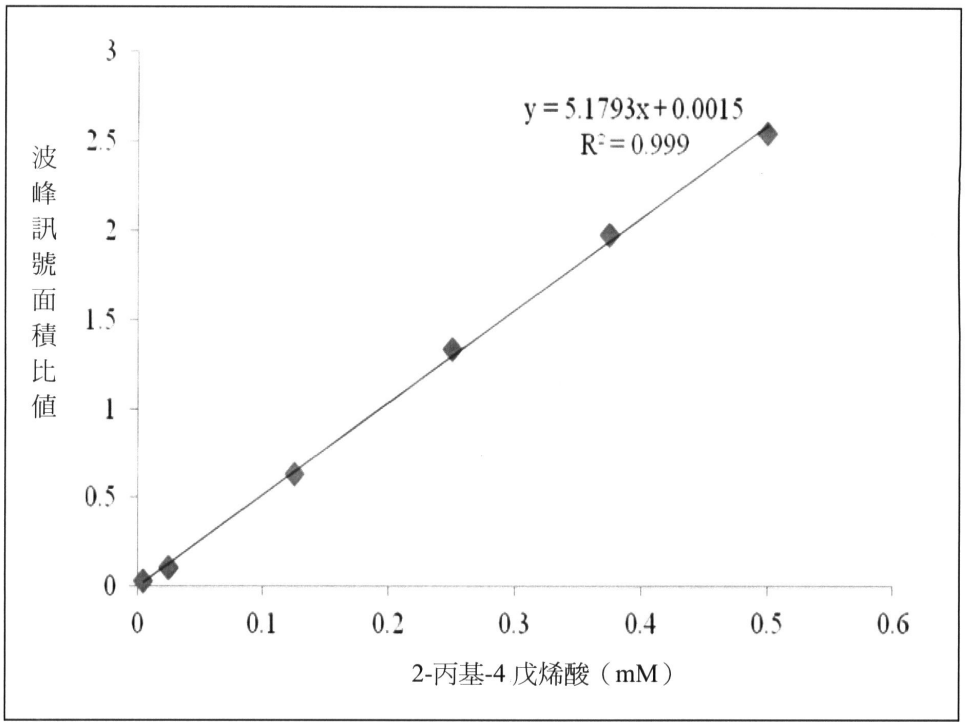
y = 5.1793x + 0.0015
R² = 0.999
波峰訊號面積比值
2-丙基-4 戊烯酸（mM）
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6

圖 4