



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I715968 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 01 月 11 日

(21)申請案號：108113804

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 04 月 19 日

(51)Int. Cl.：

G01N33/68 (2006.01)

G01N33/15 (2006.01)

G01N30/06 (2006.01)

C07B57/00 (2006.01)

C07C57/30 (2006.01)

(71)申請人：高雄醫學大學(中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)

高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：呂濟宇 LU, CHI-YU (TW)；李依珊 LI, YI-SHAN (TW)

(74)代理人：黃耀霆

(56)參考文獻：

TW I568746

TW 202022376A

PRIMAL SHARMA, SWATI GUTTIKAR, GAJENDRA SOLANKI et

al., "Determination of (S)-(+)- and (R)-(-)-ibuprofen enantiomers in human plasma after chiral precolumn derivatization by reversed-phase LC-ESI-MS/MS", *Bioanalysis*, 4(24), 2012, page 2909~2927.

審查人員：葉士緯

申請專利範圍項數：3 項 圖式數：6 共 24 頁

(54)名稱

用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組及方法

(57)摘要

一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組，係應用於檢測一待測樣品中的布洛芬之鏡像異構物。該套組包含：一寡肽，具有如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，用以與該待測樣品中的至少一布洛芬之鏡像異構物進行一偶合衍生反應，以形成至少一布洛芬衍生物；4-二甲氨基吡啶，用以提供進行該偶合衍生反應的一鹼性環境；及 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽，用以介導該偶合衍生反應的進行。本發明另關於搭配使用前述之套組，以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法。

A kit is applied to detect the enantiomers of ibuprofen in a sample. The kit includes a peptide with an amino acid sequence set forth as SEQ ID NO: 1, 4-dimethylaminopyridine and 1-[bis(dimethylamino)methylene]-1H-benzotriazolium 3-oxide tetrafluoroborate. A coupling reaction occurs between the peptide and at least one enantiomer of ibuprofen in the sample to form at least one ibuprofen derivative. 4-Dimethylaminopyridine is used to provide an alkaline environment suitable for the coupling reaction. 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-benzotriazolium 3-oxide tetrafluoroborate is used to mediate the coupling reaction. The present invention also relates to a method for detecting enantiomers of ibuprofen using the kit.

指定代表圖：

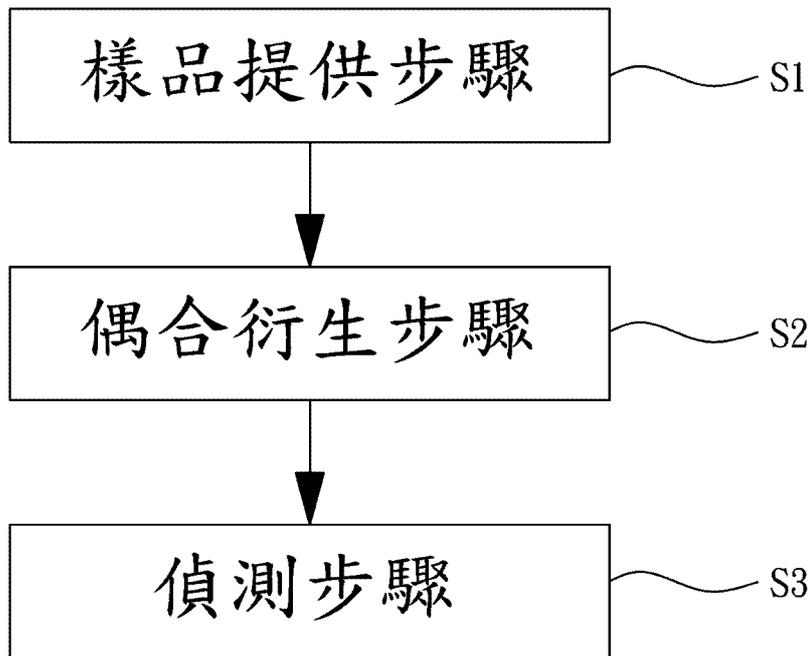
INNOVUE
新穎數位

符號簡單說明：

S1:樣品提供步驟

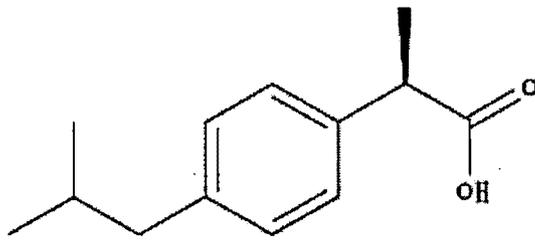
S2:偶合衍生步驟

S3:偵測步驟

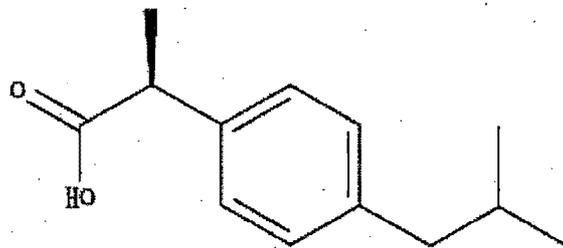


【第 2 圖】

特徵化學式：



R 型布洛芬 ((R)-ibuprofen)



S 型布洛芬 ((S)-ibuprofen)

I715968

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組及方法

【英文發明名稱】 Kit and Method for Detecting Enantiomers of

Ibuprofen

【中文】

一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組，係應用於檢測一待測樣品中的布洛芬之鏡像異構物。該套組包含：一寡肽，具有如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，用以與該待測樣品中的至少一布洛芬之鏡像異構物進行一偶合衍生反應，以形成至少一布洛芬衍生物；4-二甲氨基吡啶，用以提供進行該偶合衍生反應的一鹼性環境；及 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽，用以介導該偶合衍生反應的進行。本發明另關於搭配使用前述之套組，以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法。

【英文】

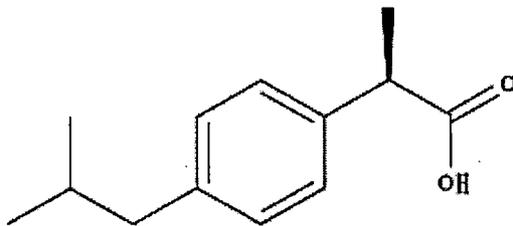
A kit is applied to detect the enantiomers of ibuprofen in a sample. The kit includes a peptide with an amino acid sequence set forth as SEQ ID NO: 1, 4-dimethylaminopyridine and 1-[bis(dimethylamino)methylene]-1H-benzotriazolium 3-oxide tetrafluoroborate. A coupling reaction occurs between the peptide and at least one enantiomer of ibuprofen in the sample to form at least one ibuprofen derivative. 4-Dimethylaminopyridine is used to provide an alkaline environment suitable for the coupling reaction. 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-benzotriazolium 3-oxide tetrafluoroborate is used to mediate the coupling reaction. The present invention also relates to a method for detecting enantiomers of ibuprofen using the kit.

【指定代表圖】 第 2 圖

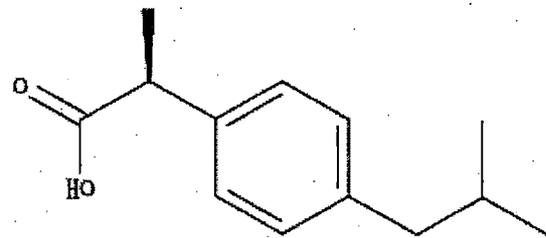
【代表圖之符號簡單說明】

- S1 樣品提供步驟
- S2 偶合衍生步驟
- S3 偵測步驟

【特徵化學式】



R 型布洛芬 ((R)-ibuprofen)



S 型布洛芬 ((S)-ibuprofen)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組及方法

【英文發明名稱】 Kit and Method for Detecting Enantiomers of

Ibuprofen

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種套組，尤其是一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組。本發明另關於以該套組檢測布洛芬之鏡像異構物的方法。

【先前技術】

【0002】 布洛芬 (ibuprofen) 屬於具有解熱鎮痛效果的非類固醇抗發炎藥物 (non-steroidal anti-inflammatory drug, 簡稱 NSAID)，主要通過抑制分布在中樞神經系統的環氧化酶 (cyclooxygenase, COX)，減少前列腺素 (prostaglandin) 及血栓素 (thromboxane) 的生成，進而減輕炎症反應，並達到緩解疼痛的效果，在處方用藥及非處方用藥皆有非常高的使用率。

【0003】 市售的布洛芬多為外消旋混合物 (racemic mixture)，由等量的 R 型布洛芬 ((R)-ibuprofen，其化學式如第 1a 圖所示) 及 S 型布洛芬 ((S)-ibuprofen，其化學式如第 1b 圖所示) 所組成，R 型布洛芬及 S 型布洛芬為鏡像異構物 (enantiomer)，二者的沸點、熔點、極性等大多數的物理性質均相同，惟只有 S 型布洛芬才具有緩解疼痛的生物活性，因而消費者在服用市售的布洛芬時，等同於服用兩倍有效劑量的布洛芬，而可能會造成肝腎的負擔。有鑑於此，確實有必要提供一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組及方法。

【發明內容】

PK15595-final A131

第1頁，共 12 頁(發明說明書)

109年9月8日修正替換頁

【0004】 為解決上述問題，本發明的目的是提供一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組，係能夠應用於檢測一待測樣品中的布洛芬之鏡像異構物者。

【0005】 本發明的次一目的是提供一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法，係搭配使用前述之套組者。

【0006】 本發明的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組，包含：一寡肽，具有如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，用以與一待測樣品中的至少一布洛芬之鏡像異構物進行一偶合衍生反應，以形成至少一布洛芬衍生物；4-二甲氨基吡啶，用以提供進行該偶合衍生反應的一鹼性環境；及 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽，用以介導該偶合衍生反應的進行。

【0007】 據此，本發明的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組，藉由該寡肽的胺基與該至少一布洛芬之鏡像異構物的羧基之間所形成的一醯胺鍵，使該寡肽及該至少一布洛芬之鏡像異構物能夠共同形成至少一布洛芬衍生物，藉由 R 型布洛芬衍生物與 S 型布洛芬衍生物之間具有較大的立體構型的差異，使該套組可以應用於區分待測樣品中所含有的布洛芬之鏡像異構物為 R 型布洛芬、S 型布洛芬或包含 R 型布洛芬與 S 型布洛芬之一混合物，為本發明之功效。

【0008】 本發明的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法，係包含：一待測樣品提供步驟，係提供一待測樣品，該待測樣品包含至少一布洛芬之鏡像異構物；一偶合衍生步驟，係混合該待測樣品、4-二甲氨基吡啶、1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽及一寡肽，該寡肽具有如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，於 4-二甲氨基吡啶提供的一鹼性環境中，使該寡肽於 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽的

109年9月8日修正替換頁

介導下，與該至少一布洛芬之鏡像異構物進行一偶合衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液包含至少一布洛芬衍生物；及一偵測步驟，係以液相層析法串聯質譜分析法偵測該衍生溶液中的至少一布洛芬衍生物，以獲得至少一訊號波。

【0009】 據此，本發明的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法，藉由該寡肽及該至少一布洛芬之鏡像異構物所共同形成的至少一布洛芬衍生物的立體構型，使該方法可以應用於區分待測樣品中所含有的布洛芬之鏡像異構物為 R 型布洛芬、S 型布洛芬或包含 R 型布洛芬與 S 型布洛芬之一混合物，為本發明之功效。

【0010】 本發明的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法，其中，該待測樣品提供步驟中，該至少一布洛芬之鏡像異構物包含一 R 型布洛芬及一 S 型布洛芬，該偶合衍生步驟中，該寡肽與該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬分別進行該偶合衍生反應，且該至少一布洛芬衍生物包含一 R 型布洛芬衍生物及一 S 型布洛芬衍生物，該偵測步驟中，該至少一訊號波包含一 R 型訊號波及一 S 型訊號波；如此，由於所形成的 R 型布洛芬衍生物及 S 型布洛芬衍生物具有較大的立體構型的差異，可以獲得該 R 型訊號波及該 S 型訊號波，並可以依據該 R 型訊號波及該 S 型訊號波之間的波峰面積的比例，來評估該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬之間的比例。

【圖式簡單說明】

【0011】

〔第 1a 圖〕 R 型布洛芬的化學結構式。

〔第 1b 圖〕 S 型布洛芬的化學結構式。

〔第 2 圖〕 本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之流程圖。

〔第 3a 圖〕 本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之第 A1 組的寡肽之測試圖譜。

〔第 3b 圖〕 本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之第 A3 組的寡肽之測試圖譜。

〔第 3c 圖〕 本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之第 A4 組的寡肽之測試圖譜。

〔第 4 圖〕 本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之第 B1~B3 組的鹼劑之測試長條圖。

〔第 5 圖〕 本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之第 C1~C3 組的偶合劑之測試長條圖。

〔第 6 圖〕 本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之用以檢測市售樣品中的布洛芬之鏡像異構物之測試圖譜。

【實施方式】

【0012】 為讓本發明之上述及其他目的、特徵及優點能更明顯易懂，下文特舉本發明之較佳實施例，並配合所附圖式，作詳細說明如下：

【0013】 請參照第 2 圖所示，本發明之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法之一實施例係包含：一樣品提供步驟 S1，係提供一待測樣品，該待測樣品包含至少一布洛芬之鏡像異構物，一偶合衍生步驟 S2，係使該至少一布洛芬之鏡像異構物與一衍生試劑進行一偶合衍生反應，以形成至少一布洛芬衍生物；及一偵測步驟 S3，係偵測該至少一布洛芬衍生物，以獲得至少一訊號波（peak）。

【0014】 詳而言之，該樣品提供步驟 S1 係提供可能含有該至少一布洛芬之鏡像異構物之待測樣品，即，該待測樣品可能含有一 R 型布洛芬、一 S

109年9月8日修正替換頁

型布洛芬，或者同時含有該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬。舉例而言，工者係可以選用一藥物樣品作為該待測樣品，亦可以選用來自一哺乳生物之血液樣品（例如一全血樣品或一血漿樣品）作為該待測樣品。該待測樣品可以溶解於乙腈（acetonitrile）中，使該待測樣品中的 R 型布洛芬及/或 S 型布洛芬可以釋出於其中；又，在該待測樣品為該血液樣品時，則可以進一步藉由離心（13,000 rpm、1 分鐘）去除該血液樣品中的血漿碎塊以獲得一上清液，該上清液即可以作為後續之偶合衍生步驟 S2 所使用之待測樣品。

【0015】該偶合衍生步驟 S2 中，係將一寡肽作為該衍生試劑，該寡肽係包含如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，且溶於水中（濃度為 0.2~2 mM）。於本實施例中，工者係混合該寡肽與該待測樣品而形成一待反應液後，使該寡肽的胺基（ -NH_2 ）與該至少一布洛芬之鏡像異構物的羧基（ -COOH ）經由該偶合衍生反應而形成一醯胺鍵（amide bond，即 -CO-NH- ），使該寡肽與該至少一布洛芬之鏡像異構物共同形成該至少一布洛芬衍生物。為便於後續說明，將包含該至少一布洛芬衍生物的溶液稱為“衍生溶液”。

【0016】又，在該待測樣品中同時包含該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬的狀況下，該寡肽則可以與該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬分別進行該偶合衍生反應，進而使所獲得的衍生溶液中的至少一布洛芬衍生物包含一 R 型布洛芬衍生物及一 S 型布洛芬衍生物。

【0017】此外，該待反應液中還包含用以提供進行該偶合衍生反應的一鹼性環境的一鹼劑，以及用以介導該偶合衍生反應之進行的一偶合劑。舉例而言，該鹼劑可以為 4-二甲氨基吡啶（4-dimethylaminopyridine，簡稱 DMAP）、咪唑（imidazole，簡稱 IMD）或三乙胺（(triethyl)amine，簡稱 TEA），該偶合劑可以為(2-肱基-氰基乙酸乙酯)-N,N-二甲基-嗎啉基脲六氟磷酸酯（(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminoxy)dimethylamino-

109年9月8日修正替換頁

morpholino -carbenium hexafluorophosphate，簡稱 COMU）、1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑丙[4,5-B]吡啶 3-氧化物六氟磷酸鹽（1-[bis(dimethylamino) methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate，簡稱 HATU）或 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽（1-[bis(dimethylamino)methylene]-1H-benzotriazolium 3-oxide tetrafluoroborate，簡稱 TBTU）。於本實施例中，該鹼劑為濃度介於 10~200 mM 之間的 DMAP，該偶合劑為濃度介於 100~200 mM 之間的 TBTU。

【0018】 接著，於該偵測步驟 S3 中，工者可以利用各種習知方法來偵測該衍生溶液中的至少一布洛芬衍生物，以獲得至少一訊號波，並依據該至少訊號波的波峰（peak）位置來評估該待測樣品中是否包含該 R 型布洛芬或該 S 型布洛芬，更可以依據該至少一訊號波的波峰面積（peak area）來評估該待測樣品中的 R 型布洛芬或 S 型布洛芬的含量多寡。

【0019】 值得注意的是，在該待測樣品中同時包含該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬的狀況下，由於該寡肽具有容易被氧化之半胱胺酸（Cysteine）殘基，因此由該 R 型布洛芬與該寡肽共同形成的 R 型布洛芬衍生物（或由該 S 型布洛芬與該寡肽共同形成的 S 型布洛芬衍生物）即可以在該偶合衍生反應的過程中發生氧化，使半胱胺酸殘基上的硫醇基（即，—SH）被氧化形成磺酸基（即，—SO₃H），而磺酸基又會與該偵測步驟 S3 所使用的管柱（如，C18 管柱）形成氫鍵（hydrogen bond），改變該 R 型衍生物及該 S 型衍生物的立體障礙，使得該 R 型布洛芬衍生物及該 S 型布洛芬衍生物之間立體構型的差異會大於該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬之間立體構型的差異，因而能夠於該偵測步驟 S3 中獲得二個分離的訊號波（即，一 R 型訊號波及一 S 型訊號波），並可以依據該二訊號波之間的波峰面積的比例，來評估該 R 型布洛芬及該 S

型布洛芬之間的比例。

【0020】於本實施例中，工者係能夠以液相層析法串聯質譜分析法（liquid chromatography-mass spectrometry，簡稱 LC-MS）進行偵測。詳而言之，係使用奈米超效能液相層析系統（nanoUPLC）搭配傅立葉變換質譜儀（LTQ Orbitrap Discovery hybrid Fourier Transform Mass Spectrometer）的串聯式質譜儀法（tandem mass spectrometry）進行，其中該傅立葉變換質譜儀係設定為正離子模式（positive ion mode）及奈米噴灑離子源（nanospray source），該離子源、鏡筒透鏡（tube lens）及毛細管（capillary）的電壓分別設定為 2.3 kV、80V 及 28 V，噴灑毛細管的溫度為 200°C，掃描區間為 400 ~ 2,000 m/z（解析度為 30,000），鎖質量離子（lock mass ion）的分子量為 445.12 m/z。又，固定相為 C18 管柱（symmetry C18，5 μm，180 μm×20 mm，及 BEH C18，1.7 μm，75 μm×150 mm），流動相係如第 1 表所示，以 400 nL/min 的流速沖提 60 分鐘。

【0021】第 1 表、流動相的沖提條件

| 沖提時間 | 流速 | 流動相的體積比 | |
|------|-----|-----------------------|-----------------------|
| | | A 溶液 ¹ (%) | B 溶液 ² (%) |
| | 400 | 99 | 1 |
| 1 | 400 | 88 | 12 |
| 20 | 400 | 55 | 45 |
| 30 | 400 | 15 | 85 |
| 35 | 400 | 15 | 85 |
| 45 | 400 | 99 | 1 |
| 60 | 400 | 99 | 1 |

¹：A 溶液為含 0.1%的甲酸（formic acid）的水溶液。

²：B 溶液為含濃度為 0.1%的甲酸的乙腈（acetonitrile，簡稱 ACN）溶液。

【0022】 依據前述，基於相同的技術概念下，本發明之一實施例的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組可以包含：該衍生試劑、該鹼劑及該偶合劑，該衍生試劑具有如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列的寡肽，且用以與該待測樣品中的至少一布洛芬之鏡像異構物進行該偶合衍生反應，以形成該至少一布洛芬衍生物，該鹼劑用以提供進行該偶合衍生反應的鹼性環境，例如 DMAP、IMD 或 TEA，該偶合劑用以介導該偶合衍生反應的進行，例如 COMU、HATU 或 TBTU。

【0023】 為證實本實施例之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法能夠用以偵測待測樣品中所含之布洛芬之鏡像異構物含量，遂配製濃度為 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之布洛芬的外消旋混合物作為標準品（溶解於乙腈），續混合體積各為 10 μL 之布洛芬的外消旋混合物、該鹼劑（DMAP，濃度為 100 mM，溶解於乙腈）、該偶合劑（TBTU，濃度為 100 mM，溶解於乙腈）及該寡肽（濃度為 1 mM，溶解於水），於 30°C 之溫度下放置 2 分鐘使該偶合衍生反應得以進行，續將所獲得的衍生溶液以 LC-MS 進行分析，以獲得該 R 型訊號波及該 S 型訊號波，並進行下列試驗：

【0024】 （A）衍生試劑的選擇

【0025】 本試驗各組之衍生試劑（濃度皆為 1 mM）係分別選用如第 2 表所示之寡肽，其餘試驗條件均如說明書第【0023】段所述。

【0026】 第 2 表、本試驗各組之寡肽的胺基酸序列

| 組別 | 胺基酸序列 |
|----|-------------|
| A1 | SEQ ID NO：1 |

109年9月8日修正替換頁

| | |
|----|---------------|
| A2 | SEQ ID NO : 2 |
| A3 | SEQ ID NO : 3 |
| A4 | SEQ ID NO : 4 |

【0027】請參照第 3a 圖所示，以第 A1 組的寡肽作為該衍生試劑可以獲得該 R 型訊號波及該 S 型訊號波，顯示本發明之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法確實可以有效區分布洛芬之鏡像異構物（即，R 型布洛芬及 S 型布洛芬）。

【0028】又，第 A2 組的寡肽無法溶於水中，而以第 A3、A4 組的寡肽作為該衍生試劑的試驗結果則如第 3b、3c 圖所示，布洛芬之鏡像異構物無法被有效區分。

【0029】（B）鹼劑的選擇

【0030】本試驗係分別選用如第 3 表所示之鹼劑（濃度皆為 100 mM），其餘試驗條件均如說明書第【0023】段所述。

【0031】第 3 表、本試驗各組之鹼劑

| 組別 | 鹼劑 |
|----|----------------|
| B1 | 4-二甲氨基吡啶（DMAP） |
| B2 | 咪唑（IMD） |
| B3 | 三乙胺（TEA） |

【0032】請參照第 4 圖所示，B1~B3 組之鹼劑中，第 B1 組之鹼劑不僅可以有效獲得該 R 型訊號波及該 S 型訊號波，且該 R 型訊號波及該 S 型訊號波的波峰面積最大，證實 4-二甲氨基吡啶確實能夠作為該鹼劑，應用於該檢測布洛芬之鏡像異構物的方法。

【0033】（C）偶合劑的選擇

【0034】本試驗係分別選用如第 4 表所示之偶合劑（濃度皆為 100

mM)，其餘試驗條件均如說明書第【0023】段所述。

【0035】 第 4 表、本試驗各組之偶合劑

| 組別 | 鹼劑 |
|----|--|
| C1 | (2-脞基-氰基乙酸乙酯)-N,N-二甲基-嗎啉基脲六氟磷酸酯 (COMU) |
| C2 | 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑丙[4,5-B]吡啶 3-氧化物六氟磷酸鹽 (HATU) |
| C3 | 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽 (TBTU) |

【0036】 請參照第 5 圖所示，C1~C3 組之鹼劑中，第 C3 組之鹼劑不僅可以有效獲得該 R 型訊號波及該 S 型訊號波，且該 R 型訊號波及該 S 型訊號波的波峰面積最大，證實 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽確實能夠作為該偶合劑，應用於該檢測布洛芬之鏡像異構物的方法。

【0037】 (D) 市售樣品的測試結果

【0038】 本試驗係以該用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法分析市售樣品，其結果如第 6 圖所示，可以獲得該 R 型訊號波及該 S 型訊號波，且該 R 型訊號波及該 S 型訊號波的波峰面積約為 1：1，顯示證實本發明之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法確實可以應用於評估該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬之間的比例。

【0039】 依據上述，本發明的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組，藉由該寡肽的胺基與該至少一布洛芬之鏡像異構物的羧基之間所形成的一醯胺鍵，使該寡肽及該至少一布洛芬之鏡像異構物能夠共同形成至少一布洛芬衍

生物，藉由 R 型布洛芬衍生物與 S 型布洛芬衍生物之間具有較大的立體構型的差異，使該套組可以應用於區分待測樣品中所含有的布洛芬之鏡像異構物為 R 型布洛芬、S 型布洛芬或包含 R 型布洛芬與 S 型布洛芬之一混合物，為本發明之功效。

【0040】再者，本發明的用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法，藉由該寡肽及該至少一布洛芬之鏡像異構物所共同形成的至少一布洛芬衍生物的立體構型，使該方法可以應用於區分待測樣品中所含有的布洛芬之鏡像異構物為 R 型布洛芬、S 型布洛芬或包含 R 型布洛芬與 S 型布洛芬之一混合物，為本發明之功效。

【0041】此外，在該待測樣品中同時包含該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬的狀況下，由於所形成的 R 型布洛芬衍生物及 S 型布洛芬衍生物具有較大的立體構型的差異，可以獲得該 R 型訊號波及該 S 型訊號波，並可以依據該 R 型訊號波及該 S 型訊號波之間的波峰面積的比例，來達成評估該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬之間的比例之功效。

【0042】值得注意的是，由於該寡肽係溶解於水中，使該偶合衍生反應係於有水的環境中（water-rich environment）進行，使得該醯胺鍵係於有水的環境中形成，明顯克服“醯胺鍵只能於無水環境中形成”的技術偏見。

【0043】雖然本發明已利用上述較佳實施例揭示，然其並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者在不脫離本發明之精神和範圍之內，相對上述實施例進行各種更動與修改仍屬本發明所保護之技術範疇，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【符號說明】

【0044】

- S1 樣品提供步驟
- S2 偶合衍生步驟
- S3 偵測步驟

SEQUENCE LISTING

<110> 高雄醫學大學

<120> 用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組及方法

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 1

Ala Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Arg

1 5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 2

Ala Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Ala

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly

I715968

1 5

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Arg

1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的套組，包含：

一寡肽，具有如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，用以與一待測樣品中的至少一布洛芬之鏡像異構物進行一偶合衍生反應，以形成至少一布洛芬衍生物；

4-二甲氨基吡啶，用以提供進行該偶合衍生反應的一鹼性環境；及

1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽，用以介導該偶合衍生反應的進行。

【請求項 2】 一種用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法，係包含：

一待測樣品提供步驟，係提供一待測樣品，該待測樣品包含至少一布洛芬之鏡像異構物；

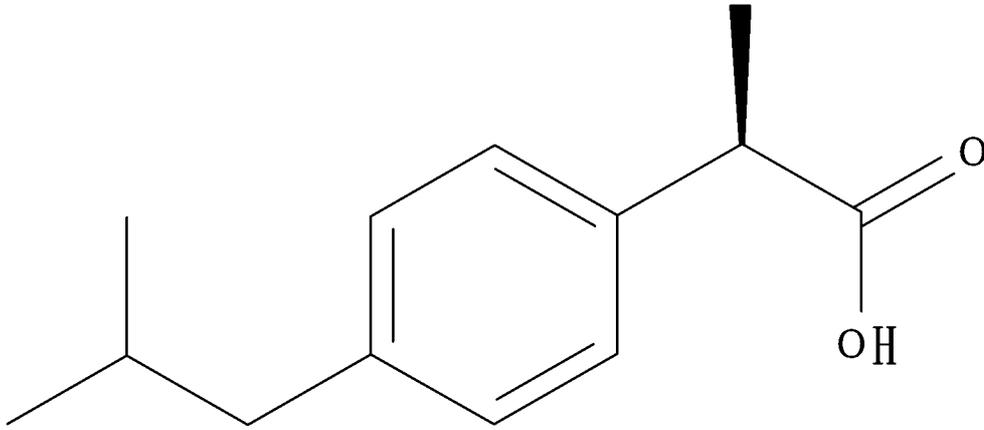
一偶合衍生步驟，係混合該待測樣品、4-二甲氨基吡啶、1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽及一寡肽，該寡肽具有如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，於 4-二甲氨基吡啶提供的一鹼性環境中，使該寡肽於 1-[雙(二甲氨基)亞甲基]-1H-苯并三氮唑 3-氧化物四氟硼酸鹽的介導下，與該至少一布洛芬之鏡像異構物進行一偶合衍生反應，以獲得一衍生溶液，該衍生溶液包含至少一布洛芬衍生物；及

一偵測步驟，係以液相層析法串聯質譜分析法偵測該衍生溶液中的至少一布洛芬衍生物，以獲得至少一訊號波。

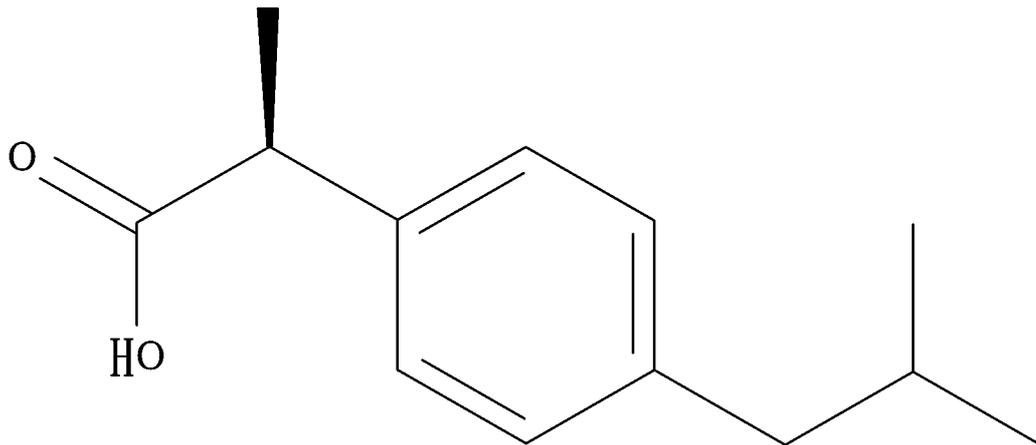
【請求項 3】 如請求項 2 之用以檢測布洛芬之鏡像異構物的方法，其中，該待測樣品提供步驟中，該至少一布洛芬之鏡像異構物包含一 R 型布洛芬及一 S 型布洛芬，該偶合衍生步驟中，該寡肽與該 R 型布洛芬及該 S 型布洛芬分別進行該偶合衍生反應，且該至少一布洛芬衍生物包含一 R 型布洛芬衍生物及一 S 型布洛芬衍生物，該偵測步驟中，該至少一訊號波包含一 R 型訊號

波及一 S 型訊號波。

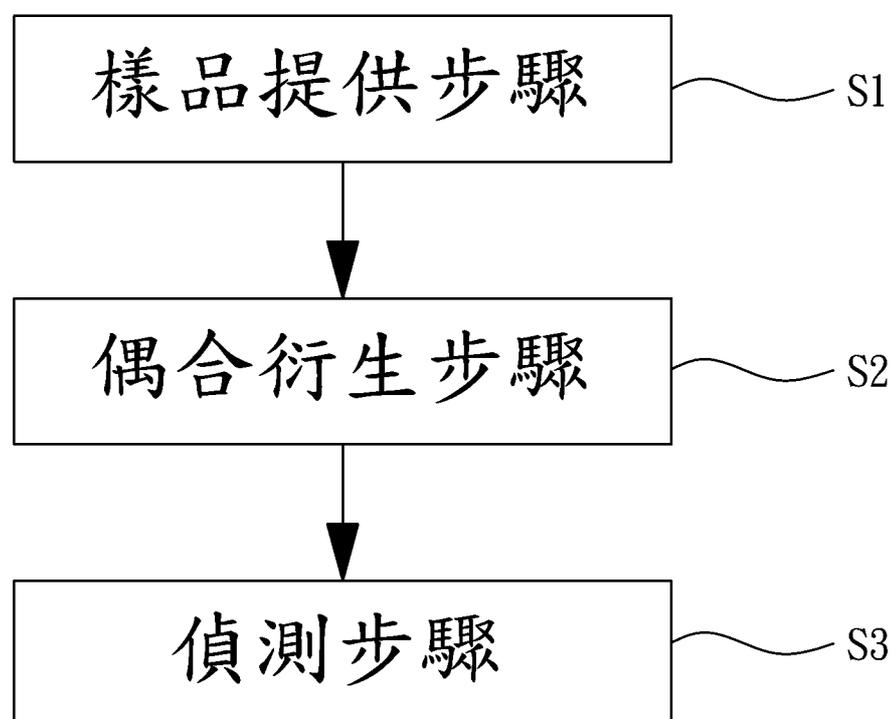
【發明圖式】



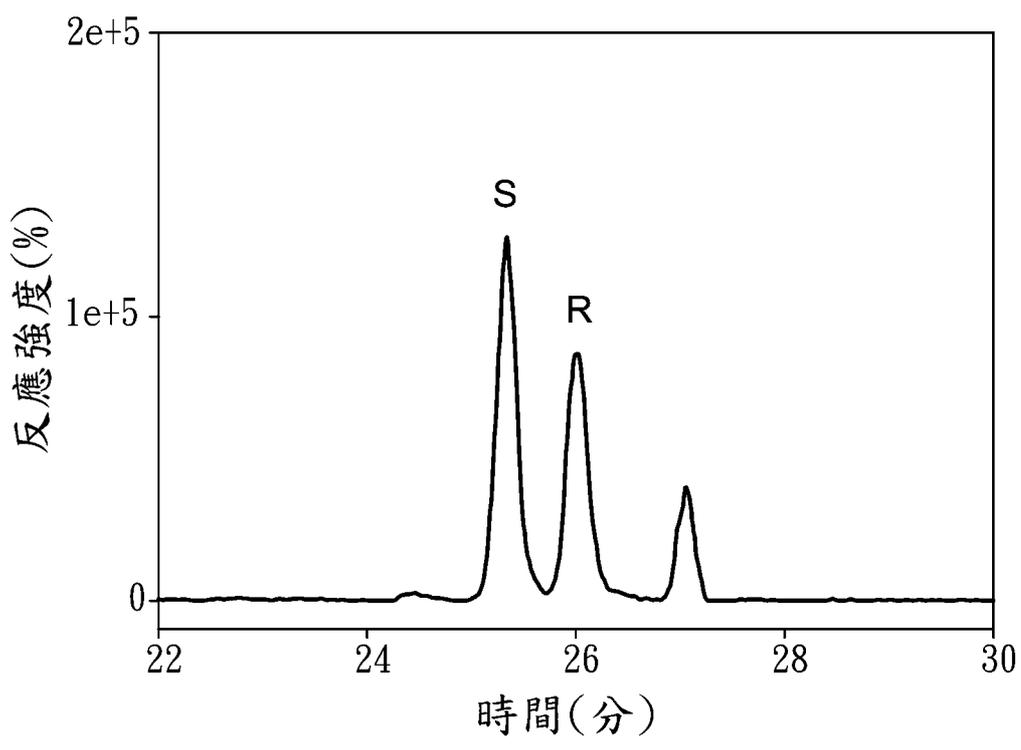
【第 1a 圖】



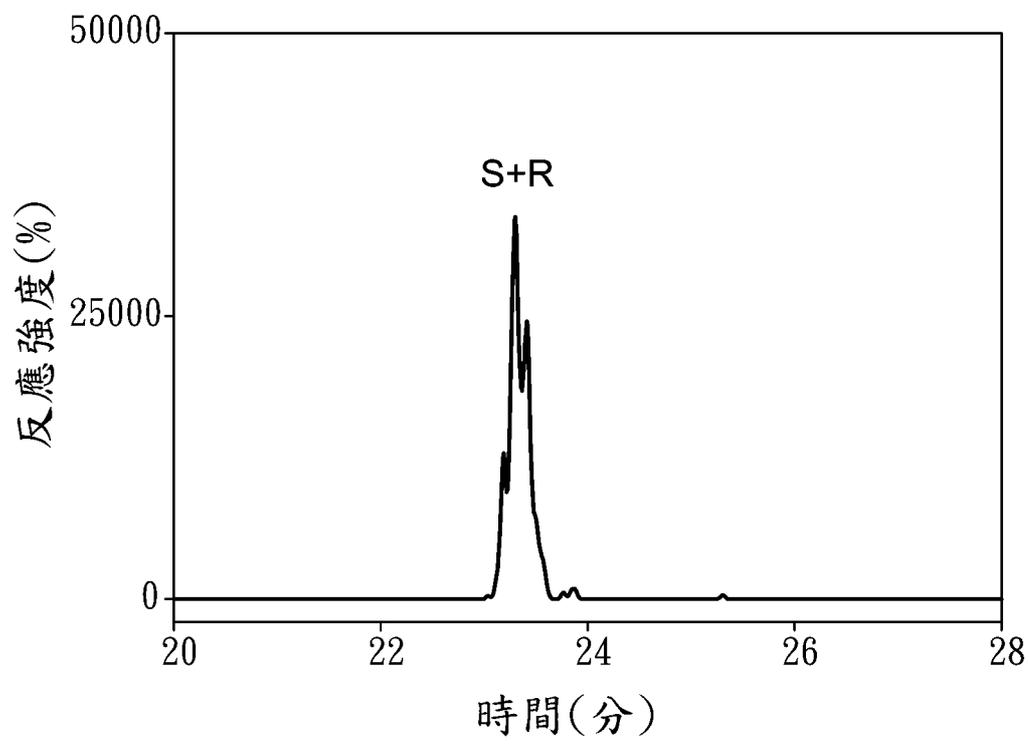
【第 1b 圖】



【第 2 圖】

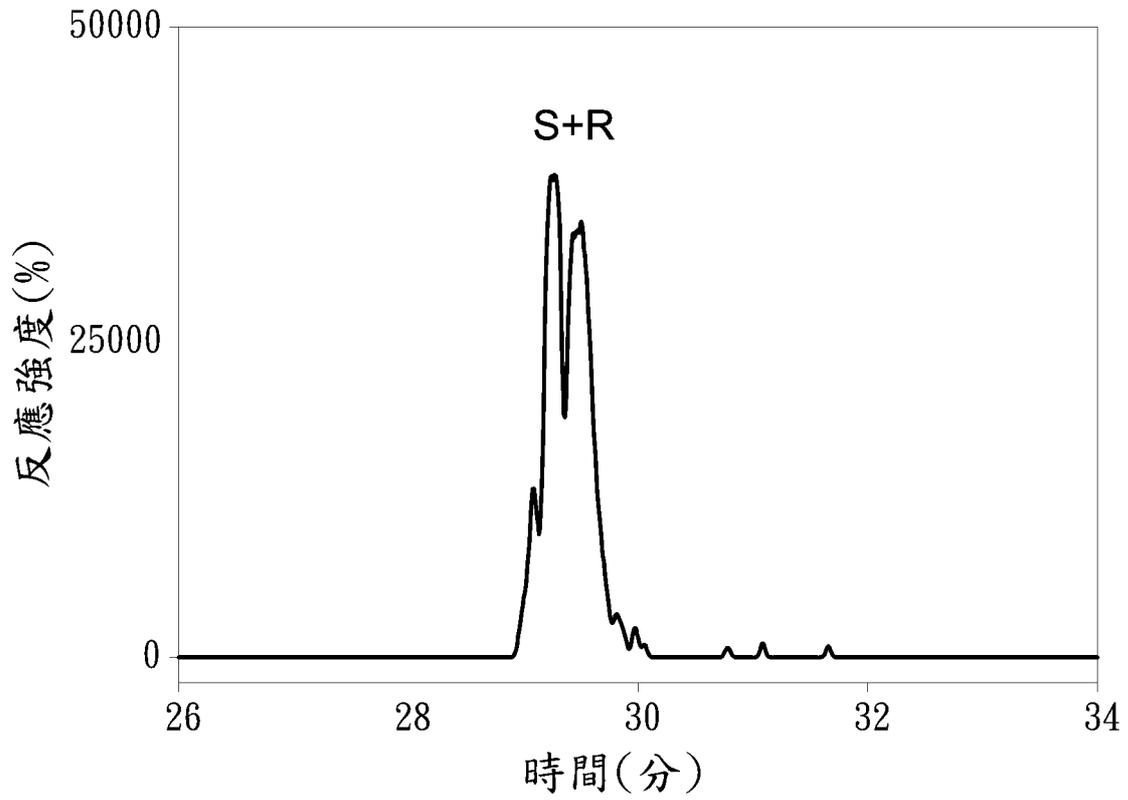


【第 3a 圖】

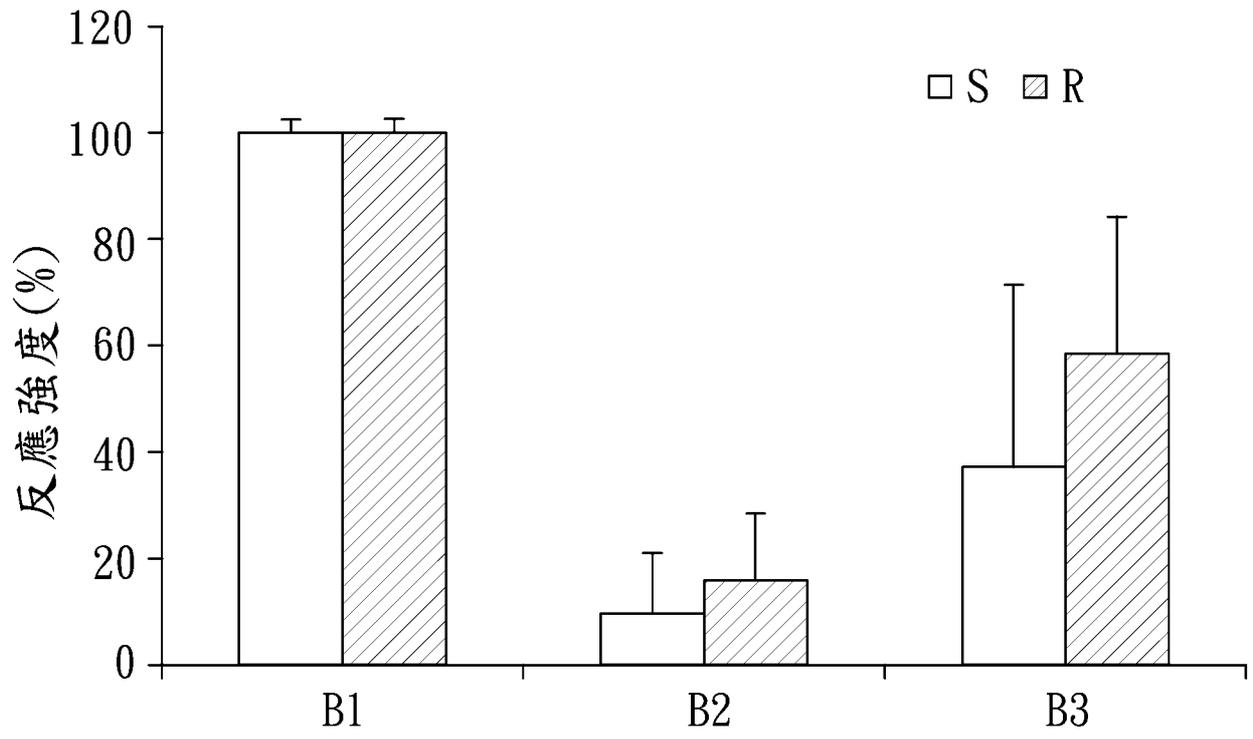


【第 3b 圖】

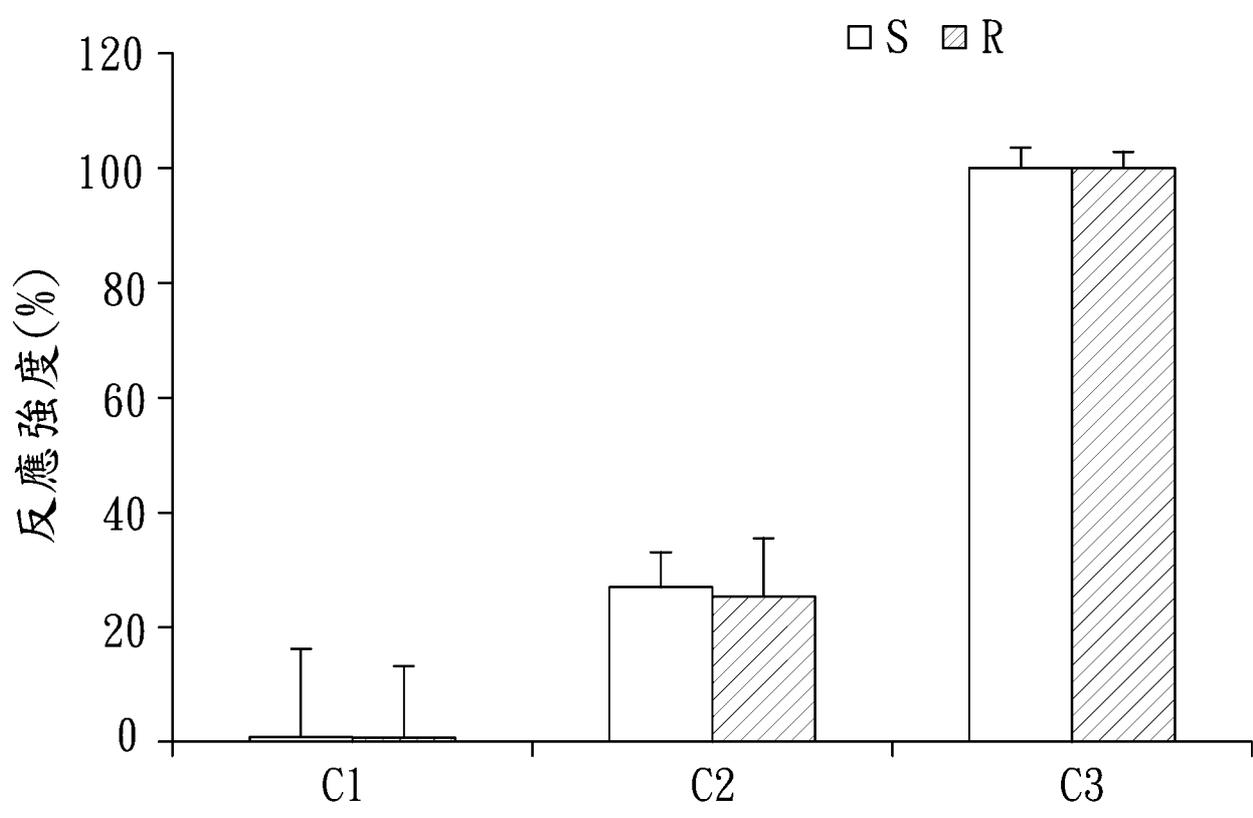
INNOVUE
新穎數位



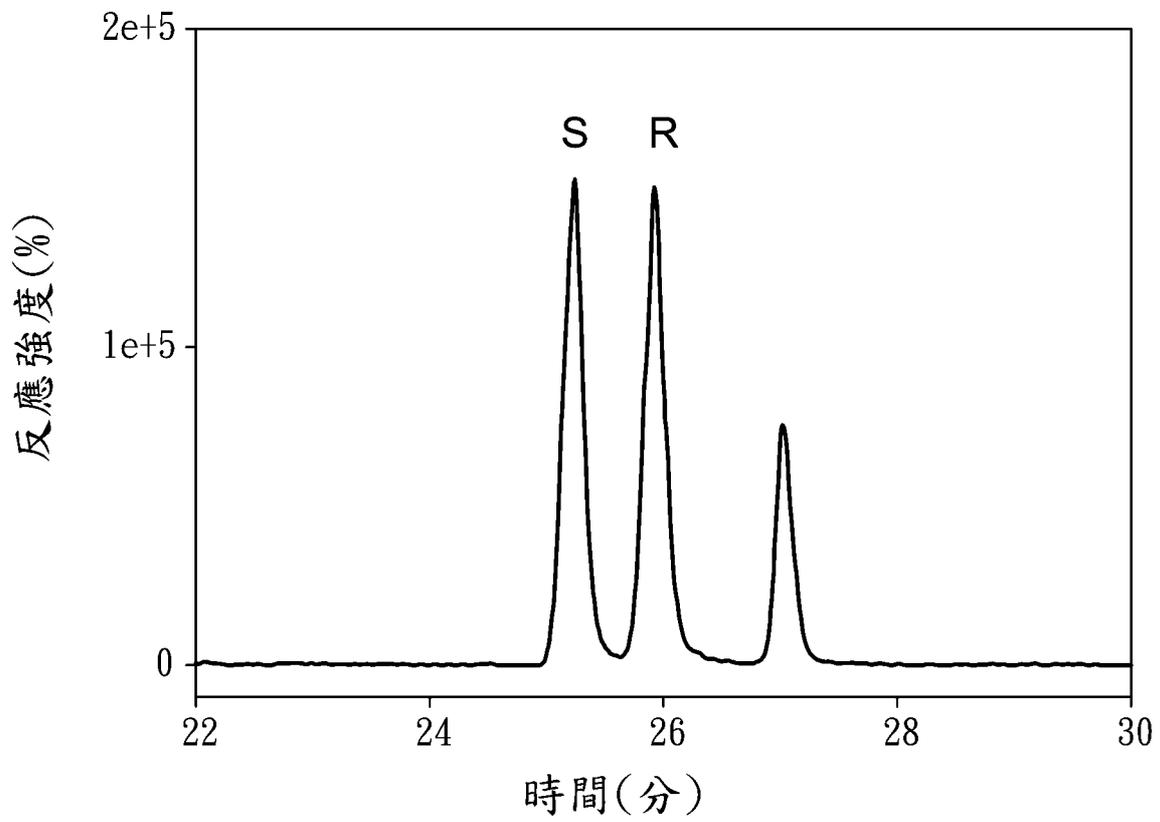
【第 3c 圖】



【第 4 圖】



【第 5 圖】



【第 6 圖】