《利用色谱-质谱法快速、简单、精确地检测尿样中的滥用药物及其定量分析》摘要

概述

对滥用药物的监测变得日趋重要。通常情况下，患者样本首先经过免疫检测法进行筛选，然后再通过质谱进行定性及定量检测。目前研究人员专注于开发一种降低成本，同时提高检测准确性的方法，高分辨质谱（HRMS），尤其是 Q-Exactive™ 在这方面得到广泛的应用。

本研究建立了一种可同时筛选及监测 47 种药物的 LC-HRMS 联合独立数据采集（DIA）方法。同时，应用 IMCSzyme®—一种生物工程改良的β-葡萄糖醛酸酶对样本进行水解。IMCSzyme®能够高效水解大多数药物，同时降低假阴性率。IMCSzyme®为纯净的酶溶液，可减少对系统的污染。

材料与方法

1. 样本准备：75 µL 尿液+300 µL 水解复合物（5000 U/mL IMCSzyme®，快速水解缓冲液及 47 个内标）。于 65℃进行水解 60 分钟。4000 rpm 离心 7 分钟即上样于 LC-MS/MS。
2. 标准及质控样品与样本同时准备，并用来制备标准曲线。
3. 仪器：Waters Acquity UPLC I-Class，Poroshell 120 SB-C18 column, 2.1 mm x 50 mm with 2.7 micron particle size。Thermo Q-Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer。

结果

实验比较了数据非独立采集（DDA-MS2）及数据独立采集（DIA-MS2）方法，DIA更适合于对于收集一个以上的70000分辨强度的分析物，且无干扰信号。校正系数大于0.99。对照样本的批内精密度小于20%，批间精密度小于10%（表1）。所有分析物的内标归一化矩阵因子的相对标准偏差（RSD）均小于14%。

实验优化了IMCSzyme®的水解时间，温度及浓度等条件，所有分析物均达到80%的水解。尤其是可待因-6-葡萄糖苷酸和吗啡-6-葡萄糖苷酸是两种极难水解的代谢物，但用IMCSzyme®可达到大于80%以上的水解效率。

结论

本研究建立并验证了一种筛选、定量检测患者尿液滥用药物的方法。该方法中应用IMCSzyme®对样本进行快速水解，且水解后的样本纯净并可提高回收率。将IMCSzyme®与DIA，Q-Exactive Orbitrap™联合使用，使得对样本的筛选、鉴定及定量更加简便、省时。

表 1. 方法验证结果。

精密度和准确性				
质控	准确性（%偏差）		精密度（%相对标准偏差）	
	批内（n=6）	批间（n=18）	批内（n=6）	批间（n=18）
最低定量限（LLOQ）	≤ 18.8	≤ 9.7	≤ 8.3	≤ 13.4
低	≤ 17.8	≤ 6.7	≤ 5.7	≤ 13.9
中	≤ 6.6	≤ 3.2	≤ 7.4	≤ 7.1
高	≤ 12.9	≤ 8.3	≤ 5.4	≤ 7.6
校正系数（R^2）		≥ 0.997		
稳定性				
稳定性	条件		准确性（%偏差）	

冻融	3 次, - 20°C	≤ 9.8
室温	24 小时	≤ 15.7
自动取样稳定性	1 周, 5 °C	≤ 12.0
长时间储存稳定性	4 周, 5 °C	≤ 17.1

此项研究为IMCS总结于技术研究报告“Screening and Quantification of Pain and Antidepressant Drugs in Human Urine by Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry”（由Ana Celia Grenier, Ph.D - Dominion Diagnostics发表于2016年ASMS会议）。