《利用新型重组 β-葡萄糖醛酸酶进行尿样中的止痛药检测》摘要

概述

美国 Precision Toxicology 实验室在 2015 年的 MSACL （Mass Spectrometry as Applied in the Clinical Laboratory）会议上发表了一种新型重组 β-葡萄糖醛酸酶（ IMCSzyme® ）在药物检测中的应用研究。研究人员比较了常用的鲍鱼 β-葡萄糖醛酸酶提取物及 IMCSzyme® 的水解效率，实验表明， IMCSzyme® 水解后，样本中葡萄糖苷酸代谢物的回收率有明显提高，且酶的使用及孵育时间都大大减少。这项研究表明 IMCSzyme® 在药物检测中的潜力。

材料和方法

在研究中，随机选择经 LC-MS/MS 方法确认为阳性的使用不同药物的患者尿液样本，并将其作为测试样本。该研究定性地比较了样品制备过程（表 1 ）。对不同的样品处理方法（如 pH 值、离子强度等）未经严格控制，所以比较结果会稍有变化。

表1 水解条件比较

分析物	IMCSzyme®	鲍鱼 β-葡萄糖醛酸酶
样本制备	稀释即上样	固相萃取
酶活性	> 50000 U/mL	25000 U/mL
酶用量	30 mL	200 mL
样本用量	140 mL	200 mL
缓冲液用量	30 mL	500 mL
内标	50 mL	100 mL
温度	60 ℃	60 ℃

结果

IMCSzyme® 只需 30 分钟即可完全水解患者样本中的葡萄糖苷酸代谢物。随着样品量从 1 mL降到250 µL，酶的使用量也从 200 µL 降到 30 µL 。使用 IMCSzyme® 进行水解，可待因、吗啡、氧吗啡酮、芬太尼、曲马多、环苯扎林、阿米替林、纳洛酮和泰普坦多的浓度明显升高，说明 IMCSzyme® 的水解效率高于以往使用从鲍鱼提取的 β-葡萄糖醛酸酶（图 1）。氢化可的松、布塔比、苯巴比妥和加巴喷丁没有形成葡萄糖苷酸复合物。这些分析物浓度的升高可能是由于样本的处理方法不同。

结论

IMCSzyme® 是一种新型的重组β-葡萄糖醛酸酶，能快速水解各种生物样本中的(R)-D-葡萄糖苷酸。严格的纯化方法使得 IMCSzyme® 的活性显著增加。实验结果证明 IMCSzyme® 可用于对代谢产物的高通量水解。

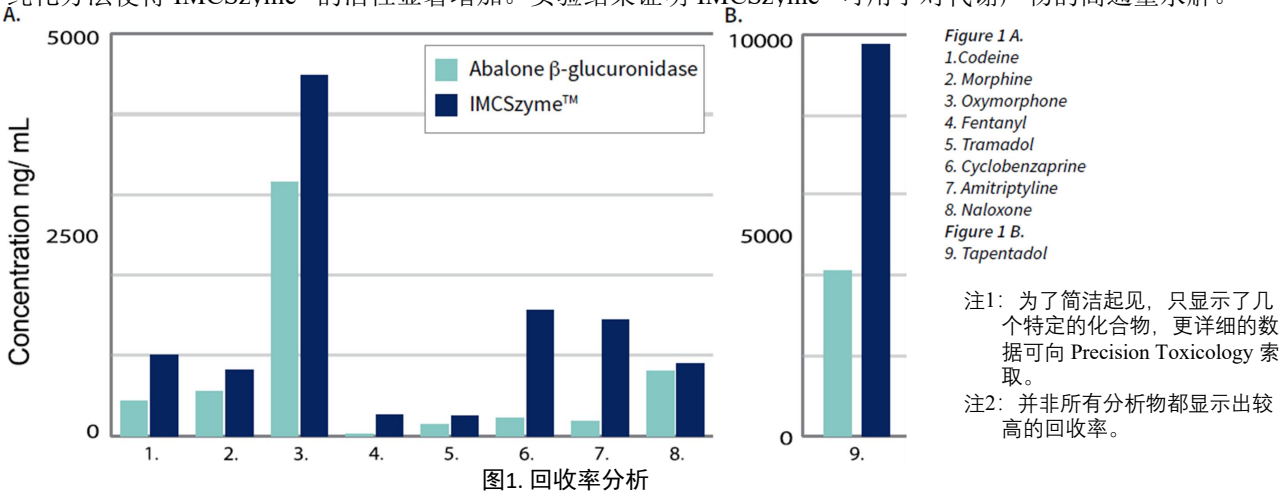


Figure 1 A.
1.Codeine
2. Morphine
3. Oxymorphone
4. Fentanyl
5. Tramadol
6. Cyclobenzaprine
7. Amitriptyline
8. Naloxone
Figure 1 B.
9. Tapentadol

注1：为了简洁起见，只显示了几个特定的化合物，更详细的数据可向 Precision Toxicology 索取。

注2：并非所有分析物都显示出较高的回收率。

图1. 回收率分析

参考文献

1. Ayodele A. Morris, Scot A. Chester, Erin C. Strickland, and Gregory L. McIntire. “Opioid Hydrolysis by a Novel Recombinant b-Glucuronidase for Urinalysis” Ameritox, Ltd. Poster, SOFT 2014
2. Ayodele A. Morris, Scot A. Chester, Erin C. Strickland, and Gregory L. McIntire. “Buprenorphine Hydrolysis Using a Novel Recombinant b-Glucuronidase for Urine DrugTesting” Ameritox, Ltd. SOFT 2014
3. Morris, A. Ayodele. “ Rapid Enzymatic Hydrolysis Using a Novel Recombinant Beta-Glucuronidase in Benzodiazepine Urine Analysis ” J. Anal. Toxicol. 38: 510-614 (2014).
4. Kaylee McDonald. “Accurate Quantitation of Amitriptyline and Cyclobenzaprine in Urine using IMCSzyme® for Hydrolysis” Univ. of South Carolina. SOFT 2014.
5. Communications with Dr. Andrew Lee of Integrated MicroChromatography Systems.

This information was summarized by IMCS from the poster “ Enzyme Hydrolysis using a Novel Recombinant b-Glucuronidase for Pain Management Urine Drug Testing” presented by Agnes Cua - Precision Toxicology at MSACL 2015.