TECHNICAL NOTE

尿样中阿米替林和环苯扎林酶解效率评价

“尿液中阿米替林和环苯扎林的酶促水解效率的变化”文章摘要

Kaylee R. Mastrianni, L. Andrew Lee, William E. Brewer, Nagarju Dongari, Michael Barna and Stephen L. Morgan (2016) Journal of Analytical Toxicology doi: 10.1093/jat/bkw062.

概述:

阿米替林（Amitriptyline），一种被广泛使用的三环类抗抑郁药；环苯扎林（ Cyclobenzaprine），一种三环类骨骼肌松弛剂，它们都会代谢形成季铵联葡萄糖醛酸基团。为了能用 LC-MS/MS 准确定量这些代谢物，需要水解葡萄糖醛酸基团。 本研究使用 IMCSzyme® 水解阿米替林和环苯扎林的葡萄糖醛酸基团，并与其他三种商用酶水解效果进行比较

材料及方法:

药物标准品购自 Cerilliant Corporation 。 葡萄糖醛酸酶分别来自 Integrated Micro-Chromatography Systems, LLC (IMCSzyme®)，Campbell Science（鲍鱼），和 Sigma-Aldrich（花园蜗牛和笠螺）。

用 100 µL 水解液（包括缓冲液、酶和内标）在 60 °C 震荡水解 200 µL 尿液 。水解时间分别为： IMCSzyme® 30 分钟，其他三种酶均为 60 分钟。水解样品用 DPX Labs, LLC 提供的 RP-S tip 进行提取，然后通过 LC-MS/MS 进行分析。

结果

阿米替林和环苯扎林的葡萄糖醛酸基团可被 IMCSzyme® 完全水解，其他三种酶只能部分水解，并且需要更长的水解时间（图 1）。色谱图也显示出这三种酶解样品中未水解的葡萄糖醛酸基团的峰值（图 2 b,e）。 相比较，IMCSzyme® 处理样品中没有检测到葡萄糖醛酸基团的峰值（图 2 c,f）。

结论

IMCSzyme®水解阿米替林和环苯扎林葡萄糖苷的效率比其他商业酶更高，孵育时间更短。结果表明，其他酶是无效的，有几种可能的因素：酶提取物中的杂质，底物结合亲和力的差异，而 IMCSzyme® 因其是转基因酶，所以具有优异的催化效率。

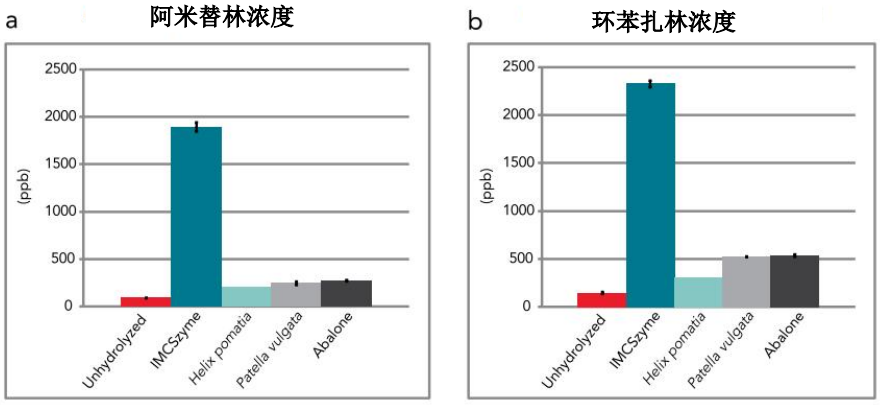


图 1. LC-MS/MS 检测两种不同三环类药物的浓度结果 (a) 阿米替林 (b) 环苯扎林。 红色表示水解前这两种分析物在尿液中的浓度。 其他为经 IMCSzyme™、花园蜗牛、笠螺和鲍鱼水解酶水解后两种不同三环类药物的浓度。

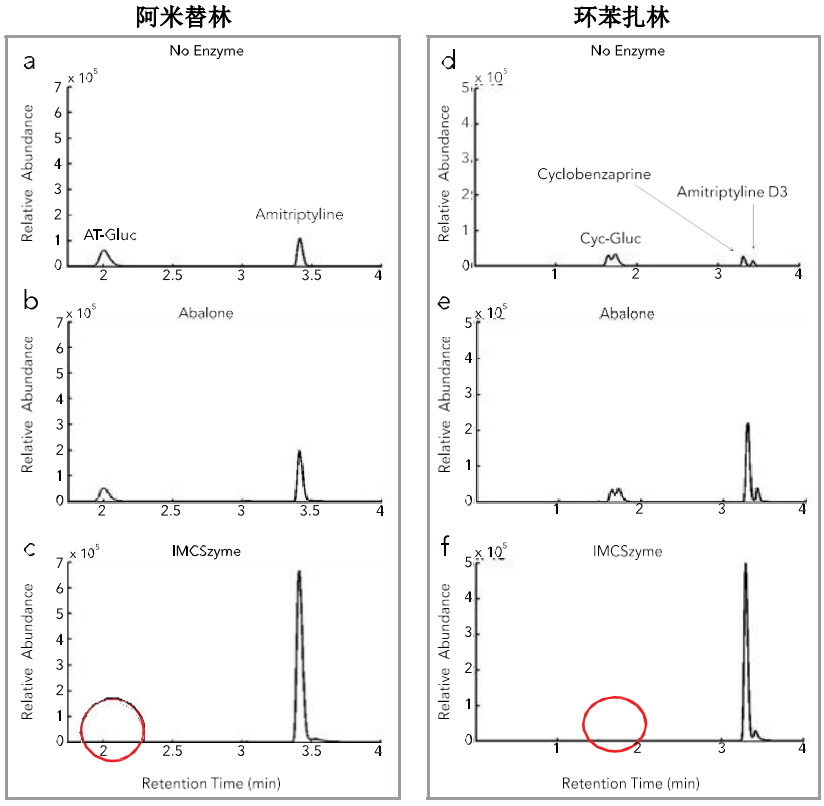


图 2. 阿米替林 (a-c) 和环苯扎林(d-f)葡萄糖醛酸基团水解色谱图比较，不使用酶 (a, d)，鲍鱼提取酶 (b, e)，IMCSzyme™ (c, f)。