5-利用新型重组β-葡萄糖醛酸酶对尿液中苯二氮卓类药物快速水解及分析

5-A summary of “Rapid Enzyme Hydrolysis Using a Novel Recombinant β-Glucuronidase in Benzodiazepine Urine Analysis”

概述

传统尿液药物分析是用鲍鱼提取的β-葡萄糖醛酸酶进行的，然而，动物提取酶杂质含量高，酶活相对较低，对后期纯化要求较高，增加了实验的繁琐性。2014年，某疼痛药物监控实验室在美国临床化学（AACC）年会上提出：应用IMCSzyme®——一种新型重组的β-葡萄糖醛酸酶可更大的提高尿液中药物检测与分析效率。这项研究成果无疑为医学实验室的药物检测奠定了夯实的基础。

材料和方法

在正常尿液中加入去甲羟基安定（Oxazepam），氯羟去甲安定（Lorazepam）和羟基安定（Temazepam）三种安定药的葡萄糖苷酸，浓度为 2500 ng/mL。进行三次平行实验。水解条件为：在最适温度 55 ℃孵育 5，15，30 和 60 min；室温下孵育 0，5，10 和 15 min。随机挑选苯二氮卓类药物阳性患者的尿液样品用于比较分析 IMCSzyme®和鲍鱼提取酶的相对水解效率。待测物通过 TLX-4 多通路高效液相色谱（HPLC）进行分离，层析柱为 Cyclone-P 0.5×50 mm Turboflow column，并通过 Thermo Scientific TSQ 量子质谱进行分析。

结论

与提取自牛肝、罗马蜗牛、大肠杆菌和笠螺的β-葡萄糖醛酸酶相比，IMCSzyme®大幅度地提高了对尿液药物的分析准确性与水解效率。研究结果表明，鲍鱼β-葡萄糖醛酸酶需在 55 ℃水解 45 min，而 IMCSzyme®则在室温就能快速完成苯二氮卓类葡萄糖苷酸的水解。IMCSzyme®通过节省实验时间，减少实验环节，极大地提高了研究效率。

图 1. 水解时间的比较

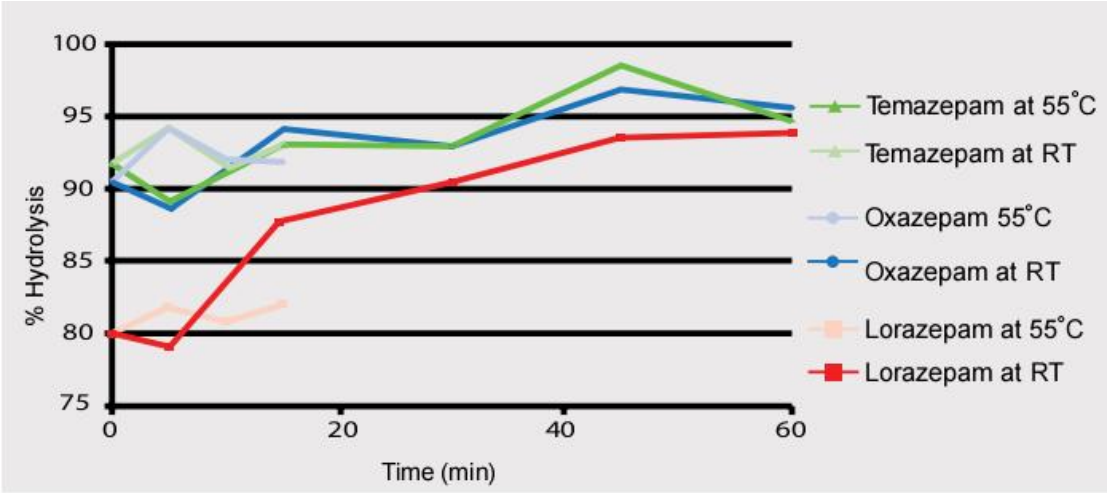


图 1：孵育时间和温度对重组β-葡萄糖醛酸酶水解去甲羟基安定（Oxazepam），氯羟去甲安定（Lorazepam）和羟基安定（Temazepam）的影响

表 2.

Analyte	Abalone Target Range (ng/mL)	IMCSzyme® （ng/mL）	Mean % Hydrolysis*±standard deviation
去甲羟基安定	45-2788	35-2708	90.5±10.1
氯羟去甲安定	79-3838	37-5808	87.6±29.3
羟基安定	33-4105	32-4361	99.1±7.8
羟基阿普唑仑	34-3016	54-5039	156.3±80.2
阿普唑仑	38-1131	31-1437	110.7±20.3
去甲安定	24-1219	32-1512	150.8±89.7
7-氨基-氯硝安定	489-1882	25-1740	86.0±15.9

室温下，0 min 时，确诊患者尿样经重组β-葡萄糖醛酸酶水解产物的回收率。

* % 相对于鲍鱼提取酶水解浓度

参考文献

1. Rapid Enzyme Hydrolyis Using a Novel Recombinant b-glucuronidase in Benzodiazepine Urine Analysis. Poster Presentation by Ayodel A. Morris, Scott A. Chester, Erin C. Strickland, and Gregory L. McIntire in Spring 2014, CAC Seminar

2. IMCSzyme® Package Insert, Catalog No. 04-E1F-050. Integrated

Micro-Chromatography Systems, Columbia, SC, 2014.

This information was summarized by IMCS from “Rapid Enzyme Hydrolyis Using a novel recombinant b-glucuronidase in Benzodiazepine Urine Analysis” by Ayodele A.

Morris, Scot A. Cester, Erin C. Strickland and Gregory L. McIntire in the Journal of Analytical Toxicology 2014; 38:6 10 - 614