

《利用 IMCSzyme® 优化血样中的鸦片类化合物水解及萃取条件》摘要

概述

近期, 美国 Orange County Crime Lab (OCCL) 实验室比较了蜗牛 (*Helix pomatia*) β -葡萄糖醛酸酶和 IMCSzyme® 在药物检测中的准确性与效率。这项研究的目的是优化 IMCSzyme® 的水解条件, 使用更少的酶且在 1 小时内完成水解以便降低成本。

材料和方法

OCCL 在猪血中加入了五种不同浓度的鸦片葡萄糖醛酸苷 (吗啡- 3β -D-葡萄糖苷酸 morphine- 3β -D-glucuronide、吗啡- 6β -D-葡萄糖苷酸 morphine- 6β -D-glucuronide、可待因- 6β -D-葡萄糖苷酸 codeine- 6β -D-glucuronide、氢吗啡酮- 3β -D-葡萄糖苷酸 hydromorphone- 3β -D-glucuronide、氧吗啡酮- 3β -D-葡萄糖苷酸 oxycodone- 3β -D-glucuronide) 进行检测, 检测采用鸦片类化合物分析的标准操作程序。采用 SPE 对血液净化, 对 1 mL 血液水解后分析化合物含量。OCCL 比较了两种水解条件: 使用 100 μ L IMCSzyme® 水解 30 分钟; 使用 200 μ L IMCSzyme® 水解 1 小时。

结果

OCCL 实验研究显示, 这五种葡萄糖苷复合物均可以在使用 100 μ L IMCSzyme®, 55°C 30 分钟内完全水解。

表1 水解情况比较

药物	目标浓度	酶用量	% ERROR*	
			30 分钟	1 小时
吗啡- 3β -D-葡萄糖苷酸	1.5 μ g/mL	100 μ L	1.5	-10.8
		200 μ L	35.5	-9.7
	0.05 μ g/mL	100 μ L	9.2	-0.6
		200 μ L	15.2	11.9
吗啡- 6β -D-葡萄糖苷酸	1.5 μ g/mL	100 μ L	4.6	-3.2
		200 μ L	27.8	12.3
	0.05 μ g/mL	100 μ L	-5.8	3.4
		200 μ L	16	23
可待因- 6β -D-葡萄糖苷酸	2 μ g/mL	100 μ L	-12.9	-1
		200 μ L	0.1	9.4
	0.05 μ g/mL	100 μ L	-39.9	-9.9
		200 μ L	-31.4	117
氢吗啡酮- 6β -D-葡萄糖苷酸	0.8 μ g/mL	100 μ L	7.2	-7
		200 μ L	12.5	5.3
	0.05 μ g/mL	100 μ L	6.8	0.6
		200 μ L	11	2.8
氧吗啡酮- 6β -D-葡萄糖苷酸	1.0 μ g/mL	100 μ L	39.8	21.1
		200 μ L	9.1	9.5
	0.02 μ g/mL	100 μ L	23.8	151.5
		200 μ L	-8.3	-18.8

*% ERROR = 目标浓度 - 实验浓度 / 目标浓度 \times 100

结论

研究表明, OCCL 可在使用更小剂量的 IMCSzyme® 的情况下完成检测, 这使得成本降低, 增加样品流出, 节省时间。更重要的是, 研究表明 IMCSzyme® 比传统使用的蜗牛 (*Helix pomatia*) β -葡萄糖醛酸酶水解更加完全。目前, OCCL 正在进行 10340 个样品鸦片类化合物的毒理检测, 使用传统的酶仅水解过程就需要三个小时, 改用 IMCSzyme® 后可以在一天之内完成这些样品的全部检测分析。据估算, 使用 IMCSzyme® 每年可为 OCCL 节省 20680 个小时的检测时间。

参考文献

1. OCCL Toxicology Section manual All Opiate CMS SIM Method 5.1
2. Meatherall, R., "GC-MS Quantitation of Codeine, Morphine, 6-acetylmorphine, Hydrocodone, Hydromorphone, Oxycodone, and Oxycodone in Blood," Journal of Analytical Toxicology, 29, July/August (2006).
3. Information provided via communication with IMCS, LLC.



图 1. 不同酶溶液外观比较
从左至右依次为: 蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶, 鲍鱼 β -葡萄糖醛酸酶, IMCSzyme®

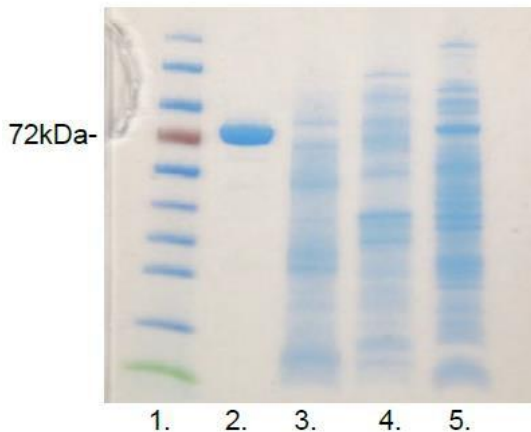


图 2. 不同酶溶液的凝胶电泳图
1. 蛋白分子量;
2. IMCSzyme®;
3. 鲍鱼 β -葡萄糖醛酸酶;
4. 蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶;
5. 大肠杆菌 β -葡萄糖醛酸酶

This information was summarized by IMCS from the technical poster "Optimization of Extraction Parameters using IMCSzyme® β -glucuronidase for Blood Opiate Analysis" presented by Nancy Kiedzerski at CAC Seminar 2014

