

## 《使用新型重组 $\beta$ -葡萄糖醛酸酶对丁丙诺啡的水解效率分析》摘要

### 概述

Ameritox 公司发现在对止痛药代谢产物进行检测时，使用现有的酶进行水解是一个费时费力的过程，因此一直在寻找一种新的酶以实现高效、快速水解。通过实验 Ameritox 公司发现 IMCSzyme<sup>®</sup>  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶快速水解的卓越潜力，使用这种新型的重组酶可以大大缩短孵育时间，从而整体减少分析处理时间。

### 材料和方法

所有标准品均购自 Cerilliant 公司， $\beta$ -葡萄糖醛酸酶购自 IMCS, LLC (IMCSzyme<sup>®</sup>)。在之前经过检测确认为丁丙诺啡和/或去甲丁丙诺啡的阳性样品中随机选择尿样，用 IMCSzyme<sup>®</sup> 在 55 $^{\circ}$ C 和 65 $^{\circ}$ C 分别水解 15、30、45 和 60 分钟。水解样品经离心后直接上样 Waters Acquity TQD UPLC/MS/MS 并分析。

### 结果

使用 IMCSzyme<sup>®</sup> 的水解百分比（均值）如图 1 所示。随着加热和孵育时间增长，从葡萄糖醛酸苷对照物中回收的去甲丁丙诺啡增加。使用 IMCSzyme<sup>®</sup> 样品可在 65 $^{\circ}$ C 时 30 分钟内可完成水解，而 55 $^{\circ}$ C 时则需 45 分钟；丁丙诺啡样品无需加热和孵育即可获得最大回收率。与 IMCSzyme<sup>®</sup> 相比，同样在 60 $^{\circ}$ C 下水解，蜗牛酶需孵育 60 分钟，花园蜗牛则需孵育 4 小时。实验对两种化合物经酶水解及其葡萄糖醛酸苷总量之间进行了比较（表 1）。

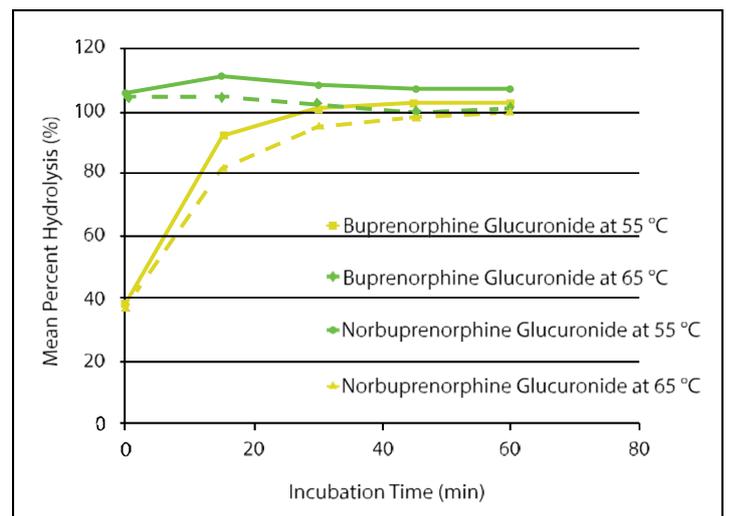


图1 孵育时间和温度对水解效率的影响

### 结论

IMCSzyme<sup>®</sup> 对丁丙诺啡和去甲丁丙诺啡的水解能力比之前报道的产品都要出色。实验中全部样品的水解率均超过 93%。使用 IMCSzyme<sup>®</sup> 可通过减少孵育时间从而缩短实验室处理时间。

表1 使用 IMCSzyme<sup>®</sup> 在 65 $^{\circ}$ C 下水解 30 分钟的回收情况分析

Analyte	Intact Glucuronide Target Range (ng/mL)	IMCSzyme <sup>®</sup> Range (ng/ mL)	% Hydrolysis*	$\pm$ Standard Deviation	Correlation (R <sup>2</sup> )	p value at 95% Confidence Interval
Buprenorphine	19-862	16-1011	103.8	18.5	0.9936	0.188
Norbuprenorphine	27-2498	32-2377	92.6	17.1	0.9873	0.018

\*% 水解百分比是指目标浓度与监测的总浓度相比

### 参考文献

- S. Feng, M. A. El Sohly and Duckworth, D. T. Hydrolysis of conjugated metabolites of buprenorphine. I. the quantitative enzymatic hydrolysis of buprenorphine-3-  $\beta$ -d-glucuronide in human urine. J. Anal. Toxicol. 25: 589-593 (2001).
- M. A. El Sohly, W. Gul, S. Feng and T. P. Murphy. Hydrolysis of conjugated metabolites of buprenorphine II. the quantitative enzymatic hydrolysis of norbuprenorphine- 3- $\beta$ -dglucuronide in human urine. J. Anal. Toxicol. 29: 570-573 (2005).

This information was summarized by IMCS from the technical poster "Buprenorphine Hydrolysis Using a novel Recombinant  $\beta$ -glucuronidase for Urine Drug Testing" by Ameritox, Ltd. at SOFT 2014

