

Boppa 等将硫酸酯酶和 β -葡萄糖苷酶 IMER 用于药物轭合物的定性和定量分析^[22]。将以上两种酶同时固定在氨基-CPG 上。初始轭合物经 C_{18} 柱分离后通过 30mm 长的 IMER, 酶反应产物用电化学检测器检测。将一些特殊的抑制剂加入流动相中, 达到选择性水解硫酸酯或葡萄糖苷酸轭合物的目的。若从流动相中除去抑制剂, 原来酶的活性就得到恢复。

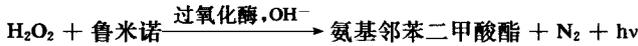
利用类似的原理, 用葡萄糖苷酶 IMER 检测植物中的氰化糖苷。经 C_8 柱分离的糖苷, 在酶作用下生成氰醇, 进而分解生成 CN^- 。用电化学方法可测定 pmol 级糖苷^[23]。

(六) 脂肪酸和酮酸

游离脂肪酸的分析在生化和临床研究中越来越重要。利用以下反应可以解决痕量脂肪酸的分析。



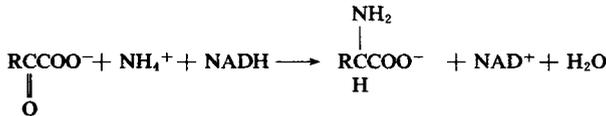
酰基-CoA 又与 O_2 (在 ACO 存在下) 反应生成 H_2O_2 ,



然后进行化学发光检测。CoA 代表辅酶 A; ACS 代表酰基-辅酶 A 合成酶; ACO 代表酰基-辅酶 A 氧化酶; ATP 代表三磷酸腺苷。IMER 由两根固定了 ACS 和 ACO 的柱组成。分离柱为 Lichro CART Superspher 60 RP-8, 流动相为甲醇-磷酸盐缓冲液。此法对 C_6-C_{17}

脂肪酸有良好线性响应, 但不适合于 C_{18} 酸^[24]。

侧链 α -酮酸含量增高与代谢紊乱有关。Kiba 等采用亮氨酸脱氢酶 IMER 测定血清中的侧链 α -酮酸。血清样品在去蛋白和超滤后, 经 C_{18} 柱分离, 以铵盐和 NADH 的缓冲液为流动相, 则发生以下反应:



根据荧光强度的减少可测出其含量^[25]。

(七) 其他

Jansen 等利用反相离子对色谱法及脲酶 IMER, 使尿素定量水解为 NH_3 后, 与邻苯二醛反应生成荧光化合物, 检测极限为 $0.3ng^{[26]}$ 。

Meek 用阴离子交换色谱分离肌醇磷酸盐后, 使流出液通过碱性磷酸酯酶 IMER, 酶解后的磷酸盐与钼酸铵溶液混合, 以检测生成的无机磷酸盐, 检测极限低于 $1nmol^{[27]}$ 。

参 考 文 献

[1] L. D. Bowers, Anal. Chem., 58, 512 A (1986).
 [2] G. E. Means et al., "Chemical Modification of Proteins", Holden Day, San Francisco, CA, 1971.
 [3] A. Iob et al., Clin. Chem., (Winston-Salem, N. C.) 27, 195 (1981).
 [4] T. Kojima et al., Bunseki Kagaku, 32, E101 (1983).
 [5] M. C. Gosnell et al., Anal. Chem., 58, 1585 (1986).
 [6] J. M. Reijn et al., Anal. Chim. Acta, 123, 229 (1981).
 [7] H. A. Mottala et al., Anal. Chem., 57, 1005 (1985).
 [8] R. Q. Thompson et al., Anal. Chim. Acta, 198, 165 (1987).
 [9] W. Swobodnik et al., J. Chromatogr., 423, 75 (1987).

[10] M. C. Wu et al., J. Chromatogr., 377, 121 (1986).
 [11] S. Lam et al., J. Chromatogr., 441, 81 (1988).
 [12] C. Eva et al., Anal. Biochem., 143, 320 (1984).
 [13] G. Damsma et al., J. Chromatogr., 428, 1 (1988).
 [14] K. Fujimori et al., J. Chromatogr., 414, 167 (1987).
 [15] K. Honda et al., Anal. Biochem., 153, 50 (1986).
 [16] P. Van Zoonen et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 5, 485 (1987).
 [17] H. Jansen et al., J. Chromatogr., 440, 217 (1988).
 [18] N. Kiba et al., J. Chromatogr., 463, 177 (1989).
 [19] N. Kiba et al., J. Chromatogr., 463, 183 (1989).
 [20] G. Marko-Varga et al., J. Chromatogr., 506, 423 (1990).
 [21] V. K. Boppa et al., J. Chromatogr., 353, 231 (1986).
 [22] V. K. Boppa et al., J. Pharm. Sci., 78, 127 (1989).
 [23] L. Dalgaard et al., J. Chromatogr., 303, 67 (1984).
 [24] H. Kawasaki et al., J. Chromatogr., 516, 450 (1990).
 [25] N. Kiba et al., J. Chromatogr., 497, 236 (1989).
 [26] H. Jansen et al., J. Chromatogr., 378, 215 (1986).
 [27] J. L. Meek et al., J. Chromatogr., 351, 303 (1986).

(收稿日期: 1990 年 11 月 3 日)