

# SCIEX液相色谱串联质谱法同时测定人血浆中精氨酸、高精氨酸、对称二甲基精氨酸和不对称二甲基精氨酸

## Quantification of Arginine, Homoarginine, Asymmetrical Dimethylarginine and Symmetric Dimethylarginine in Human Serum by SCIEX Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

胡凤梅, 荆莲艳, 张元媛, 李国庆

Hu Fengmei, Jing Liyan, Zhang Yuanyuan, Li Guoqing

**Key Words:** Arginine, Homoarginine, Asymmetrical Dimethylarginine, Symmetric Dimethylarginine, LC-MS/MS

### 前言

精氨酸家族包括精氨酸 (Arginine, ARG)、高精氨酸 (Homoarginine, hARG)、对称二甲基精氨酸 (Symmetric Dimethylarginine, SDMA) 和不对称二甲基精氨酸 (Asymmetrical Dimethylarginine, ADMA) 等化合物。精氨酸家族在人体代谢中参与重要的代谢过程。研究表明精氨酸家族的含量在子痫前期中扮演着重要角色, 而医学上诊断子痫前期 (PE) 的一些经典候选分子如血管内皮生长因子 (VEGF)、可溶性专化生长因子辅助受体等均为蛋白质水平的监测, 而蛋白质对于监测子痫前期具有一定滞后性, 那么分析孕妇外周血成分中与细胞能量代谢相关的小分子代谢物的变化来预测PE, 则可大大提前PE的诊断时间点, 并有效扩展PE预测和治疗窗口期。所以准确检测体内几种精氨酸的含量, 在临床上可以用于辅助诊断子痫前期等相关疾病。

液相色谱串联质谱法 (LC-MS/MS) 以其卓越的特异性, 极高的检测灵敏度和高通量样本测定等优点, 受到广大检测人员的青睐。

本方法基于SCIEX液相色谱串联质谱系统, 采用同位素内标校正法, 建立了一次分析, 同时准确检测血清中精氨酸、高精氨酸、对称二甲基精氨酸和不对称二甲基精氨酸的定量方法。本实验采用蛋白沉淀法进行样品前处理, 步骤较简单, 实验耗时较短, 可以满足临床检测样品的需求。检测化合物相关信息如下。

表1. 待测化合物信息列表

中文名	英文名	缩写	CAS编号	分子式
精氨酸	arginine	ARG	7004-12-8	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
高精氨酸	homoarginine	hARG	156-86-5	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
不对称二甲基精氨酸	Asymmetrical Dimethylarginine	ADMA	268564-10-9	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
对称二甲基精氨酸	Symmetric Dimethylarginine	SDMA	30344-00-4	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>

### 实验部分

#### 样品前处理

本实验采用蛋白沉淀法对血浆进行处理, 步骤如下:

取一定体积的血清样品加入内标溶液再加入乙腈进行蛋白沉淀, 涡流混匀后低温高速离心, 然后取上清加入含甲酸的甲醇溶液, 涡流混匀离心, 进样分析。

#### 色谱条件

色谱柱: Amide;

流动相: A相为含甲酸的甲酸铵的水溶液,  
B相为含甲酸的95%乙腈-甲酸铵水溶液;

洗脱方式: 梯度洗脱;

流速：0.65 mL/min；

柱温：40 °C；

进样体积：2.00 μL。

### 质谱条件

质谱平台：SCIEX 质谱

电离方式：电喷雾离子源，正离子模式；

检测方式：多反应监测 (MRM)；

离子源温度 (TEM): 500°C； 雾化气 (Gas1): 50 psi；

辅助气 (Gas2): 55 psi； 气帘气 (Gurtain Gas): 30psi；

电喷雾电压：5500V；

对应MRM通道及参数见表2。

表2. 待测组分和内标物质的质谱参数（正离子模式）

中文名	英文名	Q1	Q3	DP	CE
精氨酸	ARG-1	175.1	70.1	50	18
高精氨酸	hARG-1	189.1	84.1	50	28
对称二甲基精氨酸	SDMA	203.1	172.1	50	17
非对称二甲基精氨酸	ADMA	203.1	46.1	50	43
精氨酸-d4	ARG-15N4	179.2	71.2	50	26
高精氨酸-d4	hARG-d4	193.1	88.1	50	28
对称二甲基精氨酸-d6	SDMA-d6	209.1	172.1	50	17
非对称二甲基精氨酸-d6	ADMA-d6	209.2	52.0	50	43

表3. ARG、hARG、ADMA和SDMA的标准曲线

化合物	斜率	截距	r <sup>2</sup>	LLOQ ( μM/L )	ULOQ ( μM/L )	拟合方程
ARG	0.18360	-0.14498	0.9969	10.0	500	y=0.18360x-0.14498
	0.18416	0.01753	0.9992			y=0.18416x+0.01753
	0.18116	0.123	0.9948			y=0.18116x+0.12300
hARG	0.09187	0.01251	0.9926	0.200	20.0	y=0.09187x+0.01251
	0.09390	0.00905	0.9975			y=0.09390x+0.00905
	0.08851	0.00876	0.9984			y=0.08851x+0.00876
SDMA	0.60443	0.00644	0.9984	0.100	10.0	y=0.60443x+0.00644
	0.60536	0.0059	0.9991			y=0.60536x+0.00590
	0.58610	0.01114	0.9978			y=0.58610x+0.01114
ADMA	0.59609	0.01574	0.9987	0.100	5.00	y=0.59609x+0.01574
	0.57384	0.00389	0.9956			y=0.57384x+0.00389
	0.61042	0.00984	0.9959			y=0.61042x+0.00984

## 结果与讨论

精氨酸、高精氨酸、不对称二甲基精氨酸和对称二甲基精氨酸在各自出峰位置峰形对称，响应良好。在本方法条件下，四种化合物不存在互相干扰。典型液相色谱图如图1（SDMA浓度为0.1μM/L；ADMA浓度为0.1μM/L；ARG浓度为10.0μM/L；hARG浓度为0.2μM/L）。

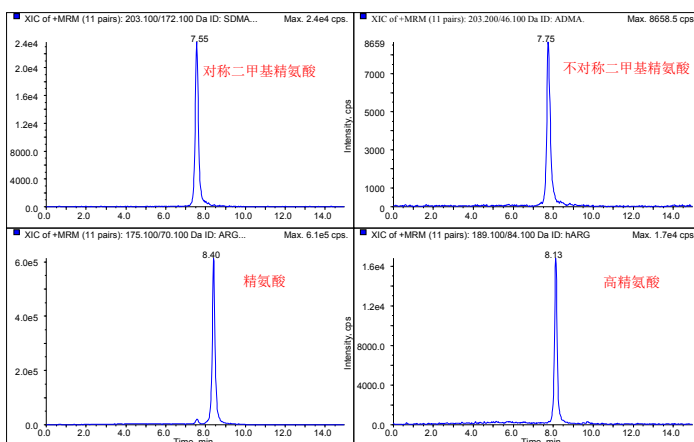


图1. ARG, hARG, ADMA和SDMA典型液相色谱图

## 标准曲线

以超纯水为替代基质，配制标准工作曲线。进行标准曲线三天实验。各待测物在各自的曲线范围内线性良好，r<sup>2</sup> > 0.99，符合生物样本检测的通用要求。具体结果见表3。

## 加标回收率

取六个来源的血清，向六个来源血清中分别添加低、高两个浓度的混标溶液，得到低、高两个添加浓度的加标样品。数据表明ARG、hARG、ADMA和SDMA四个化合物血清的平均回收率分别在90.3%~96.2%、90.2%~93.7%、89.7%~93.5%和93.0%~97.7%范围内，符合生物样本检测要求。具体结果见表4。

表4. ARG、hARG、ADMA和SDMA的平均加标回收率

ARG		hARG		ADMA		SDMA	
加标1	加标2	加标1	加标2	加标1	加标2	加标1	加标2
96.2%	90.3%	93.7%	90.2%	93.5%	89.7%	97.7%	93.0%

## 总结

本实验在SCIEX Triple Quad™液质联用平台上，实现了精氨酸（ARG）、高精氨酸（hARG）和非对称二甲基精氨酸（ADMA）以及对称二甲基精氨酸（SDMA）同时检测。采用蛋白沉淀法对样本进行前处理，并加入同位素内标进行校准，对血浆中精氨酸（ARG）、高精氨酸（hARG）和非对称二甲基精氨酸（ADMA）以及对称二甲基精氨酸（SDMA）进行定量。方法线性良好，加标回收率、精密度准确度均满足相关文件要求。可用于临床实际样本的检测。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13242-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808-1388  
传真：010-5808-1390  
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419-7200  
传真：021-2419-7333  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510-0200  
传真：020-3876-0835  
官方微信：SCIEX-China