

# 利用SCIEX液相色谱串联质谱通过直接稀释法同时测定人尿液儿茶酚胺代谢物

## Simultaneous Determination of Catecholamine Metabolites in Human Urine by SCIEX Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

胡凤梅<sup>1</sup>, 刘丹<sup>1</sup>, 黄超<sup>1</sup>, 张海明<sup>2</sup>

Hu Fengmei<sup>1</sup>, Liu Dan<sup>1</sup>, Huang Chao<sup>1</sup>, Zhang Haiming<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司

<sup>2</sup> 天津博纳艾杰尔科技有限公司

**Keywords:** Metanephrine ; Normetanephrine ;  
3-Methoxytyramine ; LC-MS/MS ; Dilution

### 引言

嗜铬细胞瘤和副神经节瘤是分别起源于肾上腺髓质或肾上腺外交感神经链的肿瘤，两种疾病合称为PPGL。嗜铬细胞会合成大量的儿茶酚胺，引起患者血压升高等一系列临床症状，这种疾病引发的高血压属于继发性高血压，可以通过检测患者体内儿茶酚胺的含量进行诊断。推荐诊断PPGL的首选检测物质是尿儿茶酚胺的代谢物，包括变肾上腺素（MN），去甲变肾上腺素（NMN）和3-甲氧酪胺（3-MT）。

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。但是此类疾病患者尿液儿茶酚胺代谢物的含量并不特别高，所以检测患者尿中的儿茶酚胺通常需要进行较为复杂的前处理以达到检测目的，例如需要对收集的尿液样进行SPE等浓缩富集操作，实验过程较为繁琐，增重了实验人员的负担。

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，同时准确检测尿液中MN，NMN和3-MT的定量方法。本实验采用直接稀释法进行样品前处理，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
变肾上腺素	Metanephrine	MN	5001-33-2	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>
去甲变肾上腺素	Normetanephrine	NMN	1011-74-1	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>
3-甲氧酪胺	3-Methoxytyramine	3-MT	554-52-9	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>

### 实验部分

#### 样品前处理

本实验采用直接稀释法对尿液进行处理，步骤如下：

取一定体积的尿液样品加入内标溶液再加入含2%甲酸的乙腈进行稀释，涡流混匀后低温高速离心，然后取上清进样分析。

#### 色谱条件

色谱柱：Luna NH<sub>2</sub> 3 μm, 2×100 mm；

流动相：A相为含甲酸的甲酸铵的水溶液

B相为含甲酸的90%乙腈-甲酸铵水溶液；

流速：0.6 mL/min；

柱温：40 °C；

进样体积：10.00  $\mu$ L。

洗脱方式：梯度洗脱，见表2；

表2. 液相梯度洗脱条件

时间 ( min )	A(%)	B(%)
0.0	0	100
0.5	0	100
1.5	15	85
2.5	15	85
2.6	50	50
3.0	50	50
3.1	0	100
5.5	0	100

### 质谱条件

质谱平台：SCIEX Triple Quad™ 6500

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): 550°C； 雾化气 (Gas1): 70 psi；

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

电喷雾电压：2000V；

对应MRM通道及参数见表3。

### 结果与讨论

变肾上腺素、去甲变肾上腺素和3-甲氧酪胺在各自出峰位置峰形对称，响应良好。在本方法条件下，三种化合物不存在互相干扰。典型液相色谱图如图1 ( MN浓度为10.0 ng/mL；NMN浓度为10.0 ng/mL；3-MT浓度为10.0 ng/mL )。

表4 MN、NMN和3-MT的标准曲线

化合物	斜率	截距	$r^2$	LLOQ ng/mL	ULOQ ng/mL	拟合方程
MN	0.00785	0.00130	0.99962	1.00	1670	$y=0.00785x+0.0013$
NMN	0.00999	2.90E-04	0.9994	1.00	1670	$y=0.00999x+2.90e-4$
3-MT	0.01689	0.0025	0.99955	1.00	1670	$y=0.01689x+0.0025$

表3 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	CXP
变肾上腺素	Metanephrine	180.0	148.1*	100	24	17
		180.0	120.1	100	24	13
去甲变肾上腺素	Normetanephrine	166.0	134.0*	110	23	15
		166.0	121.0	110	24	13
3-甲氧酪胺	3-Methoxytyramine	168.0	119.0*	80	26	13
		168.0	91.0	80	31	10
变肾上腺素-d3 -d3去甲变肾上腺素-d3	Metanephrine-d3 Normetanephrine-d3	183.1	151.1	100	24	17
		169.1	137.1	100	23	15
3-甲氧酪胺-d4	3-Methoxytyramine-d4	172.1	123.1	80	26	13

\*为定量离子对

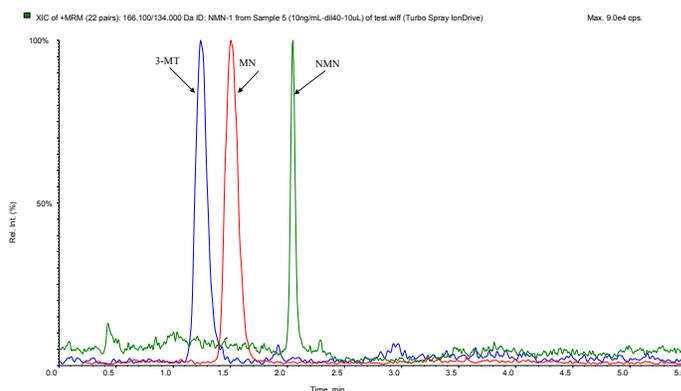


图1 MN, NMN和3-MT典型液相色谱图

### 标准曲线

以50%甲醇水为替代基质，配制标准工作曲线。各待测物在各自的曲线范围内线性良好， $r^2 > 0.99$ ，符合生物样本检测的通用要求。具体结果见表4。

## 加标回收率

向实际尿液样本中分别添加低、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MN、NMN和3-MT三个化合物尿液的平均回收率均在85%~115%范围内，符合生物样本检测要求。具体结果见表5。

表5 MN、NMN和3-MT的平均加标回收率

MN		NMN		3-MT	
加标1	加标2	加标1	加标2	加标1	加标2
101.80%	90.40%	92.60%	93.10%	95.00%	93.80%

## 总结

本实验在SCIEX液质联用平台上，实现了变肾上腺素（MN）、去甲变肾上腺素（NMN）和3-甲氧酪胺（3-MT）同时检测。采用直接稀释法对尿液样本进行前处理，并加入同位素内标进行校准，对尿液中变肾上腺素（MN）、去甲变肾上腺素（NMN）和3-甲氧酪胺（3-MT）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. 或在英国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14864-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](https://www.sciex.com.cn)