[技术简报]

血浆中醛固酮的LC/MS分析

Martijn van Faassen、Maarten van den Noort and Ido Kema，
荷兰格罗宁根大学医学中心

目的

展示如何使用LC/MS对血浆中的醛固酮进行高效分析。

背景

醛固酮（一种由肾上腺产生的类固醇激素）有助于调节体内钠和钾的浓度水平，从而通过激素调控血压并达到体液和血液电解质的平衡。

准确测定血浆中低浓度水平的类固醇激素（如醛固酮）是一件非常困难的事情。类固醇激素会与其他结构类似的相关类固醇发生抗体交叉反应，在较低浓度下可变度趋于增高，因此许多现有检测方法都缺乏针对性。常规检测方法通常需要执行大量耗时的萃取和提纯步骤，然后进行衍生化分析。鉴于以上种种问题，许多实验室都转向使用LC/MS，这种方法可为类固醇激素的测定提供必要的灵敏度和特异性。然而，即便采用LC/MS，醛固酮的测定仍然极具挑战，因为其在血浆中的含量极低并且在质谱仪中很难被离子化，让分析变得尤其困难。

使用LC/MS对血浆中的醛固酮进行高效测定

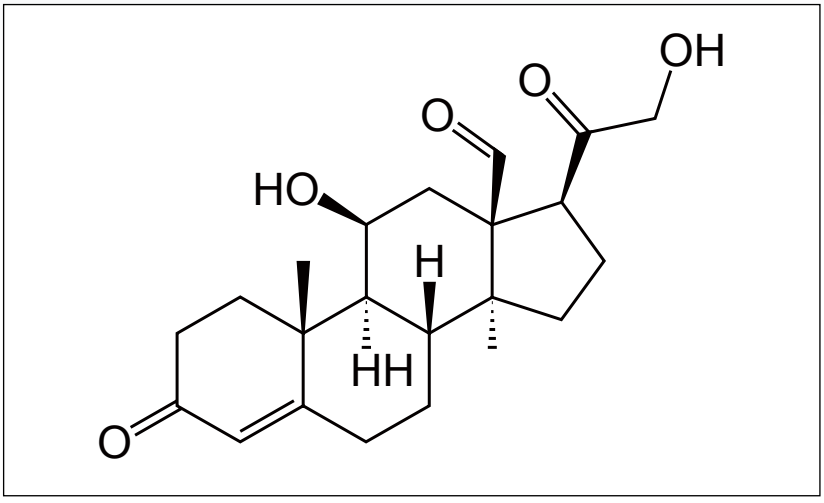

图1. 醛固酮的结构。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

解决方案

本技术简报开发了一种用于分析血浆中醛固酮的临床研究学方法。该方法将在线SPE系统与LC/MS系统相结合，用于醛固酮的测定。该样品制备模式实现了样品制备与LC/MS分析的全面整合与自动化。

样品制备方法

使用$ZnSO_4$按1:4稀释血浆样品，沉淀蛋白质并离心分离。除去蛋白质后，将25 µL样品注入由经典ACQUITY UPLC和Xevo® TQ-S质谱仪所组成的、并配备在线SPE管理器（OSM）的LC/MS系统中。SPE操作如下：

步骤	溶剂	体积（µL）
活化	甲醇	1000
活化	Magic Mix	1000
平衡	水	1000
上样	水	2000
清洗	15%甲醇＋0.1%氨	500
清洗2	10%甲醇＋0.1%甲酸	250
清洗3	10%甲醇	250
钳夹冲洗	甲醇	1000
钳夹冲洗1	Magic Mix	1000
钳夹冲洗2	水	1000
钳夹冲洗3	10%甲醇	500

表1. 在线SPE条件。Magic Mix =甲醇/乙腈/异丙醇/H_2O + 0.2%甲酸。

SPE完成后，按照下列梯度条件对样品进行LC/MS分析：15%水/甲醇 + 0.01%氨（100 - >10%；3分钟），使用ACQUITY UPLC BEH C_{18}色谱柱，130Å，1.7 µm，2.1 × 50 mm。

结果

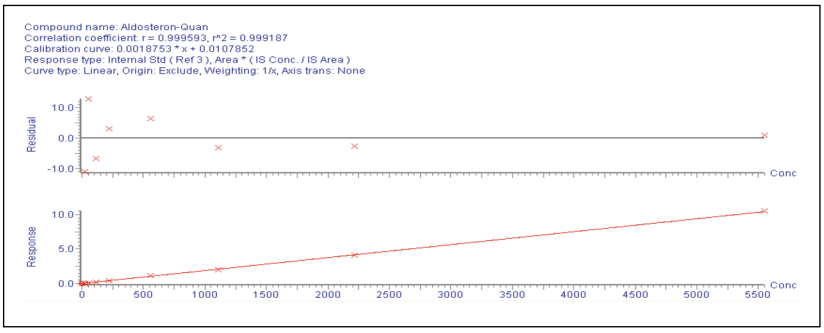

图1. 醛固酮标准品的校准曲线。校准曲线在22 pM-5500 pM浓度范围内。

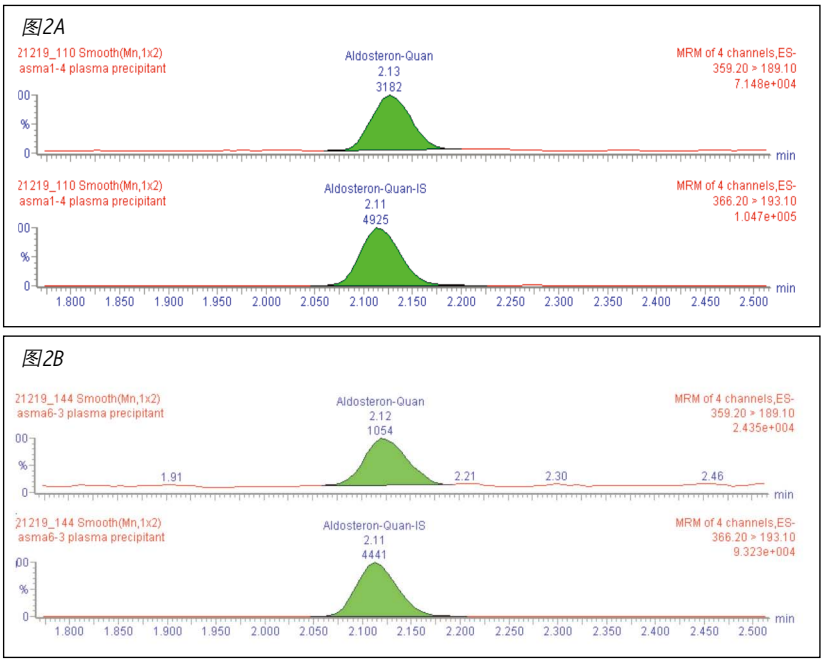

图2. 血浆中醛固酮的测定。在图2A中，测得血浆中含有346 pM醛固酮。此浓度水平的信噪比为100，变异系数为2%。在图2B中，测得血浆中含有124 pM醛固酮。此浓度水平的信噪比为43，变异系数为11%。测得该方法的LLOQ约为60 pM，信噪比>10且变异系数<20%。

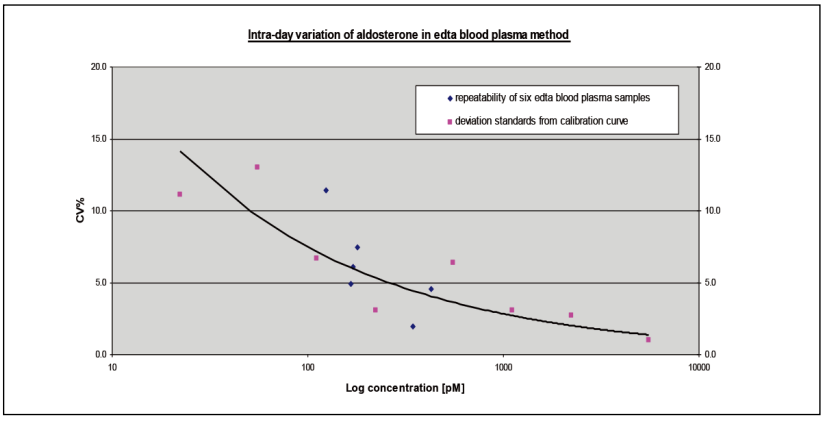

图3. 血浆中醛固酮的日内变化情况。此图对比了六种血浆样品以及醛固酮标准品中不同浓度醛固酮的变异系数。该方法的总体重现性<11%。

对来自三种醛固酮浓度水平（100，700和2000 pM）的混合血浆样品进行进样，以测试本方法随时间变化的重现性和稳定性。每种样品进样20次，以确定峰面积是否保持一致。结果如图4所示。

醛固酮浓度	CV%
100 pM	12%
700 pM	6.5%
2100 pM	2.9%

图4. 方法重现性测定。

总结

本研究开发了一种用于测定血浆中醛固酮的高效临床研究学方法，该方法应用了LC/MS和在线SPE系统。SPE样品制备与LC/MS分析能力的结合，可为血浆中醛固酮的常规检测提供必需的灵敏度和重现性。

此处所开发的方法实现了：

- 血浆中醛固酮的灵敏分析（LLOQ约为60 pM）
- 高效分离醛固酮，避免了干扰和过高评估
- 与LC/MS结合的高效SPE样品制备
- 醛固酮浓度的大范围测定，同时具有十分卓越的重现性和极低的检测变异系数

以上信息仅用于科学研究，不适用于临床诊断。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters，ACQUITY UPLC，UPLC，Xevo和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2013 年沃特世公司。印制于中国。2013年10月 720004654ZH TC-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6554 5999
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com