



## 全自动磁性固相萃取 对血浆儿茶酚胺的提取和净化

(仅供科研参考，不可作为临床诊断依据)

### 关键词

嗜铬细胞瘤，儿茶酚胺，固相萃取，磁性固相萃取，液相色谱质谱，  
Pheochromocytoma, SPE, mSPE, LC-MS/MS

## 前言

嗜铬细胞瘤 (Pheochromocytoma) 是一种罕见疾病，每十万人中的年诊断率为1~2例。其中约30%为遗传患者，临床表现为阵发性高血压、头痛、心悸、高血糖等，可能会伴有致死性心血管并发症。嗜铬细胞瘤会引起儿茶酚胺的分泌增加，因此测定血浆中儿茶酚胺、去甲肾上腺素及其代谢物对临床诊断有重要价值。

通常，血浆中儿茶酚胺测定包括多巴胺 (DA)、去甲肾上腺素 (NE)、肾上腺素 (E)，以及它们的代谢物3-甲氧酪胺 (3-MT)、去甲变肾上腺素 (NMN)、变肾上腺素 (MN)，化学信息如下表。它们均为碱性强极性化合物，通常使用离子交换原理的SPE材料进行提取和净化。

中文名	缩写	英文常用名	CAS	分子式	pKa*	logP*
去甲肾上腺素	NE	Norepinephrine	138-65-8	C8H11NO3	9.50	-0.68
肾上腺素	E	Epinephrine	51-43-4	C9H13NO3	9.69	-0.43
多巴胺	DA	Dopamine	51-61-6	C8H11NO2	10.01	0.030
3-甲氧基多巴胺	3-MT	3-Methoxy-4-hydroxy phenethylamine	554-52-9	C9H13NO2	10.39	0.53
变肾上腺素	MN	Metanephrine	5001-33-2	C10H15NO3	10.05	-6.81E-04
去甲变肾上腺素	NMN	Normetanephrine	97-31-4	C9H13NO3	9.99	-0.39

\*www.chembase.cn

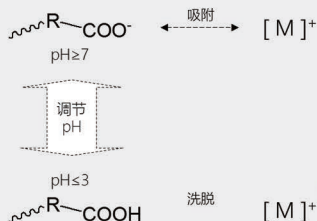
● SPE是近二十年来得到快速发展应用的理化检测样品前处理方法之一，我们将传统SPE填料设计成拥有永磁性的分撒萃取试剂，并结合自动化设备的研发和应用，形成磁性固相萃取技术 (mSPE) 和全自动提取系统AUTO M32。



如下图，WCX吸附剂键合了羧酸根基团，在溶剂体系pH值中性或偏碱性条件下电离并带负电荷，以电荷吸引作用吸附目标化合物正离子[M]<sup>+</sup>达到捕集的效果。通过调节溶剂pH值至3以下时，羧酸根饱和而处于电中性，失去电荷吸引的[M]<sup>+</sup>被洗脱至溶剂中，从而实现与杂质的分离与净化。

当然，无论哪种SPE过程，达到热力学平衡通常都是若干种机理的混合作用结果。

本文结合液相色谱串联质谱仪，考察了WCX磁性固相萃取技术在儿茶酚胺测定中的适应性。



## 实验过程

### ▶▶ 标准曲线准备

逐级稀释制备S1~S8八个浓度水平的标准曲线工作液，六种目标物浓度为0.2~50ng/mL，其中3-甲氧胺浓度为0.02~5ng/mL。

移取上述系列溶液40μL，添加360μL水，添加400μL适合浓度的六种目标物对应的稳定同位素标记内标水溶液。所得系列标准样品中，六种目标物浓度为0.02~5ng/mL，其中3-甲氧胺浓度为0.002~0.5ng/mL。

### ▶▶ 样品准备

移取400μL血浆样品，添加400μL适合浓度的六种目标物对应的稳定同位素标记内标水溶液。

### ▶▶ 磁性萃取

移取20μL 0.1g/mL（相当于20mg）混合均匀的WCX磁性萃取剂悬混液，置于专用96孔板的1#（或7#）孔位内。

如表2所示，移取对应溶剂于专用96孔板内。并设定AUTO MS32全自动提取仪方法，运行样品进行磁性萃取。完成后，取洗脱液注入LC-MS/MS测试。

孔位，列	步骤	溶液	体积
1 (7)	活化	85%乙腈，含0.3%甲酸	200
2 (8)	平衡	水	800
3 (9)	上样	上样溶液	800
4 (10)	淋洗1	水	800
5 (11)	淋洗2	乙腈	800
6 (12)	洗脱	5%乙腈，含0.3%甲酸	100
2 (8)	排废	/	600

## 实验数据

如下表所示，取某正常人血浆，添加六种儿茶酚胺类目标物，两次平行处理。所得回收率95.2-116%，相对标准偏差1.4-9.3%。

化合物	Recovery (%)	RSD (%) , n=2
DA	100	4.6
3-MT	103	8.6
E	95.2	9.3
NE	113	1.9
MN	116	1.4
NMN	109	3.9

如下表所示，取血浆浓度为0.2ng/mL (3-MT, 0.02ng/mL) 标准样品平行处理六次，内标峰面积相对标准偏差4.4-9.7%。

	1	2	3	4	5	6	RSD (%)
DA	6463.414	5890.268	6446.041	5638.473	7295.949	6972.265	9.7
3-MT	15310.61	14779.61	15997.64	14174.88	16351.4	15895.52	5.4
E	998.934	1220.293	1213.724	1275.245	1414.716	1402.288	12
NE	17718.87	17465.77	18156.8	17045.62	19233.23	18961.66	4.8
MN	17245.73	16635.67	18121.86	16038.84	17856.48	17611.18	4.6
NMN	11492.5	11251.39	12438.7	10977.81	11777.71	11840.67	4.4

如下表所示，六种儿茶酚胺类标准曲线线性及其准确度。

化合物	线性回归方程	R <sup>2</sup>
DA	$y = 7.234x - 0.0865$	0.9998
3-MT	$y = 5.9234x + 0.0015$	0.9998
E	$y = 22.589x - 0.5422$	0.9994
NE	$y = 2.4097x + 0.0495$	0.9998
MN	$y = 6.452x - 0.0265$	0.9999
NMN	$y = 6.2451x - 0.0295$	0.9999

## 结果与讨论

综上所述可以看出，使用WCX磁性固相萃取剂，结合AUTO M32全自动萃取仪，提取和净化血浆中儿茶酚胺类目标物。经LC-MS/MS分析测试，线性良好，结果准确精密，符合基本定量测试的方法学要求。同时，磁性固相萃取技术（mSPE）结合全自动提取系统AUTO M32，大幅度减少传统SPE的移液操作和人为实时监测，节约了人力成本，并显著降低人为因素在前处理中的影响。

## 普敦实验室设备（上海）有限公司

服务热线：4001-520-260

客服邮箱：china@pureton.com.cn

公司地址：上海市闵行区光华路 248 号 1 号楼 1405 室



公众号



服务号