

# 基于SCIEX LC-MS/MS系统对血清中11-脱氢皮质酮和前列腺素A2的检测

## Detection of 11-dehydrocorticosterone and prostaglandin A2 in serum based on SCIEX LC-MS/MS system

王冬, 黄超, 赵祥龙, 郭立海  
Wang Dong, Huang Chao, Zhao Xianglong, Guo Lihai

**Keywords:** 11-Dehydrocorticosterone; Prostaglandin A2; Serum; LC-MS/MS

### 前言

11-脱氢皮质酮 (11-DHC) 是类固醇激素中的一种, 不仅调节机体在基础状态下的物质代谢, 而且还参与机体对应激刺激的调节, 很容易通过细胞膜进入细胞内, 与细胞质受体结合, 形成激素-受体复合物, 后者进入细胞核内, 与特异的DNA位点结合, 调节靶基因的转录和翻译。前列腺素A2(PGA2)是环戊烯酮PGs中的一种, 由PGE2通过非酶脱水产生。它通过其在细胞质膜中的同源受体发挥作用。PGA2具有抗肿瘤活性。据报道称, 一些G蛋白偶联受体 (GPCRS) 参与了许多实体肿瘤的生长。11-脱氢皮质酮特异性地激活GPR126并触发其下游的Gi信号, 在体内促进肿瘤形成; 前列腺素A2诱导抑癌基因p53激活肿瘤细胞中的细胞凋亡、自噬细胞死亡以及细胞周期阻滞来发挥抗癌作用。

目前11-DHC和PGA2抗体尚未上市, 也少有报道。11-DHC、PGA2的免疫分析与其他内源性代谢物具有不同的交叉反应。临床中可利用LC-MS/MS的检测方法解决免疫分析面临的阻碍。到目前为止, 还没有一种有效的方法同时检测血清中的11-DHC和PGA2。因此, 建立一种基于液质联用法同时准确测定11-脱氢皮质酮和前列腺素A2的分析方法, 为肿瘤标志物的研究提供了新的检测方法。

本方案基于SCIEX液相色谱串联质谱系统, 采用SPE法进行前处理, 同位素内标校正, 建立了对血清中11-脱氢皮质酮和前列腺素A2进行精准定量及分析, 并对方法灵敏度、线性、准确度和精密度的、基质效应、加标回收进行了系统的方法学验证。

### 实验部分

#### 1. 样品预处理:

提取: 准确量取200  $\mu$ L血清样品于1.5 mL离心管中, 加入10  $\mu$ L内标, 加入200  $\mu$ L (甲醇:0.1M硫酸锌=7:3), 涡旋混匀1 min, 加入400  $\mu$ L水, 涡旋混匀1 min, 4  $^{\circ}$ C 14000 r/min离心10 min, 取上层溶液待用。

净化: 取SPE板 (Cleanert PEP 96 Well Microplates:2mg), 依次用200  $\mu$ L甲醇活化, 200  $\mu$ L水平衡。取650  $\mu$ L上清液加载至SPE板, 弃去滤液; 依次用200  $\mu$ L水和200  $\mu$ L正己烷进行淋洗, 弃去淋洗液; 用100  $\mu$ L甲醇:乙腈 (1:1) 进行洗脱, 40 $^{\circ}$ C氮吹, 用80  $\mu$ L100mM氨水30%乙腈水复溶, 混匀待测。

#### 2. 色谱质谱条件:

色谱条件: 色谱柱: C18 (2.6  $\mu$ m, 2.1  $\times$  100 mm), 流动相: A: 0.05%甲酸水溶液, B: 0.05%甲酸乙腈溶液, 柱温: 40 $^{\circ}$ C, 流速: 0.3 mL/min, 梯度洗脱, 液相梯度见表1。

表1. 色谱柱液相梯度洗脱条件

时间 (min)	A(%)	B(%)
0.0	80	20
5.0	35	65
5.5	3	97
6.5	3	97
6.6	80	20
8.0	80	20

表2. 质谱参数

分析物	Q1	Q3	Dwell time	ID	DP	CE
11-脱氢皮质酮 (11-Dehydrocorticosterone)	345.1	121.2	30	11-DHC-1*	120	33
	345.1	242.1	30	11-DHC-2	120	45
11-Dehydrocorticosterone -13C4	349.2	123.2	30	11-DHC-01 IS*	120	34
	349.2	305.1	30	11-DHC-02 IS	120	33
前列腺素A2 (Prostaglandin A2)	333.1	315.1	30	Prostaglandin-A2-1	-80	-14
	315.1	271.1	30	Prostaglandin-A2-2*	-120	-20
前列腺素A2-d4 (Prostaglandin A2-d4)	337.1	319.0	30	IS Prostaglandin-A2-D4-1*	-80	-14
	337.1	275.5	30	IS Prostaglandin-A2-D4-2	-80	-20

\* 定量离子

质谱条件: ESI源

气帘气 CUR: 40 psi

碰撞气 CAD: Medium

雾化气 GS1: 60 psi

辅助气 GS2: 60 psi

IS电压: +5500/-4500 V

源温度 TEM: 550°C

质谱参数见表2

## 结果与讨论

### 1. 方法灵敏度

以1%BSA为替代基质, 考察11-脱氢皮质酮和前列腺素A2的峰形情况, 结果表明化合物峰形良好, 11-脱氢皮质酮和前列腺素A2的特征图谱见图1。

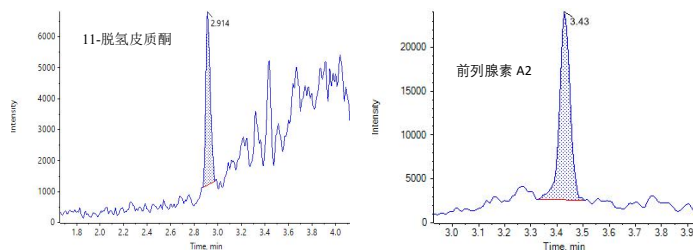


图1. 脱氢皮质酮和前列腺素A2色谱图

### 2. 方法线性

以1%BSA为替代基质, 配制混合标曲溶液, 按上述前处理步骤进行处理, 制作标准工作曲线。表3显示, 11-脱氢皮质酮和前列腺素A2在0.01~20 ng/mL均具有良好的线性, 其回归系数 $r > 0.995$ 。

表3. 标准曲线结果

名称	线性	r
11-脱氢皮质酮	$y=0.09682x+4.09261e-4$	0.99748
前列腺素A2	$y=0.13460x+0.02001$	0.99778

### 3. 方法准确度

为了考察该检测方法的准确性, 向血清中添加低、中、高三个浓度的工作溶液计算加标回收率, 表4显示, 不同浓度水平的加标回收率在98.07%~107.70%之间, 不同浓度下加标回收率精密度 $CV\% \leq 15\%$ , 回收率良好, 满足方法学要求。

表4. 加标回收率结果

名称	质控	回收率%	CV%
11-脱氢皮质酮	LQC(0.5ng/mL)	107.70	0.39
	MQC(5ng/mL)	101.68	3.64
	HQC(10ng/mL)	102.78	0.74
前列腺素A2	LQC(0.5ng/mL)	103.60	12.07
	MQC(5ng/mL)	101.09	7.51
	HQC(10ng/mL)	98.07	7.51

#### 4. 方法精密度

为了考察该方法精密度，分别进行11-脱氢皮质酮和前列腺素A2的精密度方法验证，表5显示，11-脱氢皮质酮不同浓度水平的批内CV%为1.23%~5.07%，前列腺素A2不同浓度水平的批内CV%为0.58%~6.46%精密度良好，满足方法学要求；11-脱氢皮质酮批间CV%为3.29%~3.70%，前列腺素A2批间CV%为3.33%~5.78%，精密度良好，满足方法学要求。

表5. 精密度实验结果

名称		LQC (0.5ng/mL)	MQC (5ng/mL)	HQC (10ng/mL)
11-脱氢皮质酮	批内 (CV%)	1.71	1.67	2.01
		5.07	1.23	4.39
		1.96	2.54	1.59
	批间 (CV%)	3.29	3.70	3.64
前列腺素A2	批内 (CV%)	6.46	3.99	2.13
		0.58	3.82	0.64
		4.80	2.31	1.91
	批间 (CV%)	4.55	5.78	3.33

#### 5. 提取回收率

为了考察前处理过程中的待测物和内标的提取效率，分别对11-脱氢皮质酮和前列腺素A2的提取回收率进行方法验证，表6显示，11-脱氢皮质酮不同浓度水平的提取回收率为98.08%~100.70%，前列腺素A2不同浓度水平的提取回收率为92.97%~97.00%，提取回收率良好，满足方法学要求。

表6. 提取回收率结果

名称		LQC (0.5ng/mL)	MQC (5ng/mL)	HQC (10ng/mL)
11-脱氢皮质酮	回收率%	100.71	98.08	99.05
前列腺素A2	回收率%	95.85	92.97	97.00

#### 6. 基质效应

为了考察基质效应引入的灵敏度影响，分别对11-脱氢皮质酮和前列腺素A2的基质效应进行方法验证，表7显示，11-脱氢皮质酮

不同浓度水平的基质效应为106.21%~112.50%，前列腺素A2不同浓度水平的提取回收率为85.50%~95.43%，满足方法学要求。

表7. 基质效应结果

名称		LQC (0.5 ng/mL)	MQC (5 ng/mL)	HQC (10 ng/mL)
11-脱氢皮质酮	基质效应 (%)	112.50	106.21	108.05
前列腺素A2	基质效应 (%)	85.50	89.90	95.43

#### 7. 血清样本检测

在本方法条件下，各化合物在各自出峰位置峰形对称，响应良好。1-脱氢皮质酮和前列腺素A2可以实现基线分离，实际人血清样本中两种化合物的色谱图如图2。

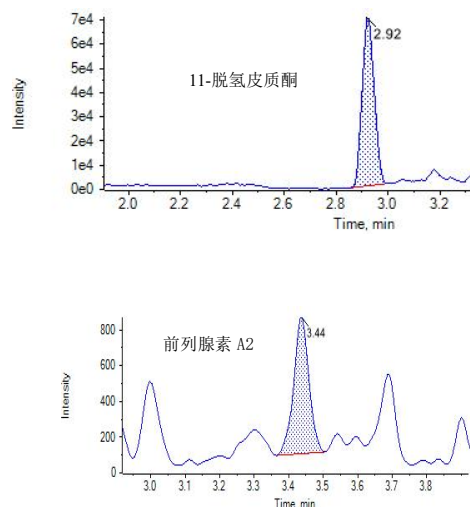


图2. 血清中1-脱氢皮质酮和前列腺素A2色谱图

#### 总结

本方案基于SCIEX液质连用平台上，建立了血清中11-脱氢皮质酮和前列腺素A2含量测定LC-MS/MS方案。该方法通过SPE法进行前处理，同位素内标校准，结合质谱正负同时采集模式，对血清中11-脱氢皮质酮和前列腺素A2进行同时定量。方法线性良好，加标回收，提取回收，基质效应，精密度满足相关要求。该方案可满足血清中11-脱氢皮质酮和前列腺素A2检测需求，为肿瘤标志物及生信分析提供新的检测方法。

## 参考文献

- [1] Su-Been Lee , Sangsun Lee. Induction of p53-Dependent Apoptosis by Prostaglandin A2. *Biomolecules* 2020, 10, 492.
- [2] Ferranti Peti, Ana Paula, Locachevic, Gisele Aparecida, Borges Prado, Morgana Kelly . High-Resolution Multiple Reaction Monitoring Method for Quantification of Steroidal Hormones in serum. *Journal of Mass Spectrometry*; v. 53, n. 5, p. 423-431, MAY 2018.
- [3] Manu Verma, Karen Sooy, George Just, Mark Nixon. Quantitative analysis of 11-dehydrocorticosterone and corticosterone for preclinical studies by liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2020 Sep;34 Suppl 4(Suppl 4):e8610.
- [4] Zhong-Min Li , Kurunthachalam Kannan . Determination of 19 Steroid Hormones in Human Serum and Urine Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Toxic.* 2022 Nov 12;10(11):687.
- [5] Liuxi Chu , Yao Huang , Yunhao Xu , Li-Kang Wang , Qin Lu. An LC-APCI+-MS/MS-based method for determining the concentration of neurosteroids in the brain of male mice with different gut microbiota. *J Neurosci Methods.* 2021 Aug 1;360:109268.
- [6] Nora Vogg , Tobias Müller , Andreas Floren. Simplified urinary steroid profiling by LC-MS as diagnostic tool for malignancy in adrenocortical tumors. *Clin Chim Acta.* 2023 Mar 15;543:117301.
- [7] Wentao An , Hui Lin . Progesterone activates GPR126 to promote breast cancer development via the Gi pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022 Apr 12.

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。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15762-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：021-2419-7201  
传真：021-2419-7333  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州办公室  
广州国际生物岛星岛环北路1号  
B2栋501、502单元  
电话：020-8842-4017

官方微信：[SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)