

# SCIEX Triple Quad™ 系统靶向测定多巴胺合成和代谢主要通路上的8个代谢物的应用

## Determination of 8 Metabolites on main Pathways of Dopamine Biosynthesis and Metabolism by SCIEX Triple Quad™ System

雷敏, 龙志敏, 郭立海

Lei Min, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX, 中国

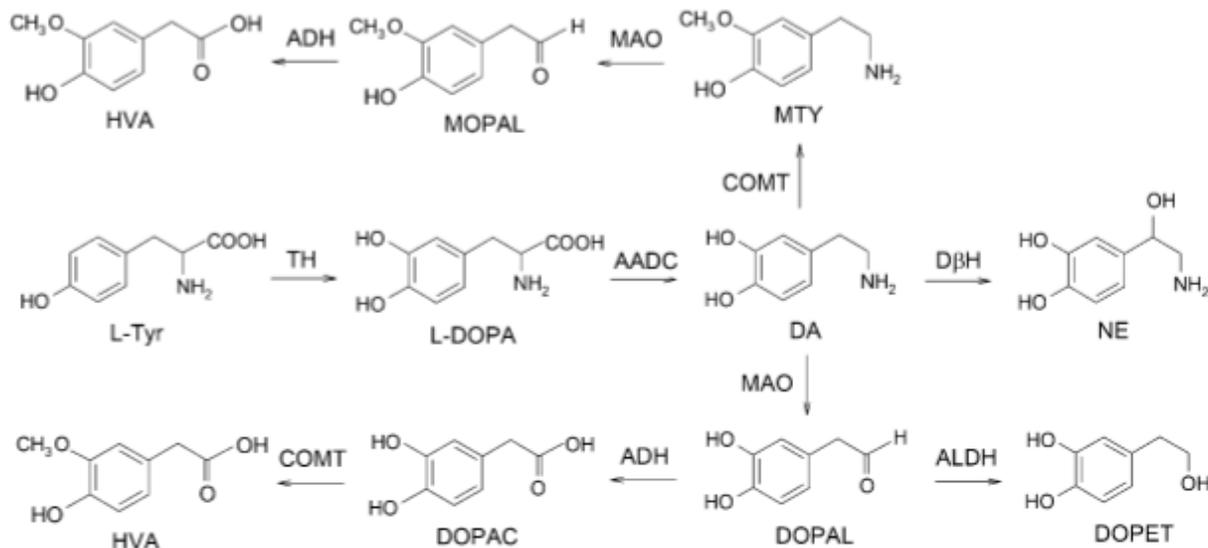
**Key Words:** Dopamine Biosynthesis and Metabolism Pathway, Target Metabolomics, Dopamine and other metabolites, Biomarker

### 引言

多巴胺(以下简称DA)是大脑中最重要的也是最丰富的儿茶酚胺,且是其他神经递质的前体。20世纪60年代, Hornykiewicz<sup>[1,2]</sup> 研究认为多巴胺的耗竭与帕金森疾病密切相关,因此通过靶向代

谢组学的研究思路,探索多巴胺代谢通路上代谢物的变化与帕金森疾病之间的关系的研究者也越来越多。该技术方案旨在建立该代谢通路上主要的8个代谢物的测试方法,为研究者建立该测试方法提供参考。

涉及到多巴胺合成和代谢通路的主要步骤如下<sup>[3]</sup>。



**图1. 多巴胺合成和代谢的主要通路。** L-Tyr 在TH和AADC作用下转变成DA; DA依次在MAO, ADH和COMT作用下, 分别转变成DOPAL, DOPAC, 最终到HVA。继而, DA做为NE的前体, 通过DβH转变成NE。根据一个小通路上, DOPAL 通过ALDH可降解为DOPET。DA依次在COMT和ADH的作用下, 途径MTY和MOPAL转变为HVA的次级代谢通路也显示在图中。

## 本文实验方法特点

本文展示了使用SCIEX Triple Quad™ 系统对多巴胺合成和代谢通路上的多巴胺及其代谢物共8个化合物进行测定，方法具有以下特点：

1. 仪器的灵敏度高，8个化合物方法定量下限在0.2-2ng/ml之间，满足生物样本中多巴胺及其代谢物定量要求。
2. 仪器和方法的特异性好，可正负切换同时检测，仅6.5min的方法即可准确定量，检测效率高。
3. 8个化合物最低定量下限的RSD在1.97%-5.18%之间，表明仪器和方法的重现性好。
4. 该方法对多巴胺代谢通路上化合物的测试有很好的参考意义，有助于更好的研究帕金森等精神类疾病的生物标志物。

## 仪器设备

SCIEX Exion LC™系统 + Triple Quad™系统



表1. 质谱参数

化合物名称	极性	Q1	Q3	保留时间(min)	去簇电压 ( DP, eV )	碰撞能量(CE, eV)	碰撞池出口电压(CXP, eV)
HVA	负离子	180.9	122.1	3.15	-50	-19	-11
DOPAL		150.9	123	3.02	-80	-20	-11
DOPET		152.9	123	2.97	-60	-17	-8
DOPAC		123.2	93.1	2.99	-80	-18	-10
NE	正离子	152	107	0.78	50	25	7
L-DOPA		198.1	152.1	1.58	45	18	7
3-MT		168.1	119.2	2.84	45	24	7
DA		154.1	137.1	1.69	45	12	7

## 液相方法

色谱柱：HSS T3 (100 × 2.1 mm, 1.8 μm)

流动相：A相：水（含0.1%甲酸）

B相：乙腈（含0.1%甲酸）

流速：0.4 ml/min

柱温：40℃；

进样量：5 μL

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	98	2
1.20	98	2
2.50	40	60
4.50	5	95
5.00	5	95
5.01	98	2
6.50	98	2

## 质谱方法

离子源：ESI源，正负离子切换同时检测-Scheduled MRM™模式

离子源参数：

IS电压：正离子：5500V；

负离子：-4500V

气帘气 CUR: 30 psi

雾化气 GS1: 60 psi

辅助气 GS2: 60 psi

源温度 TEM: 600℃

碰撞气 CAD: Medium

## 实验结果

1. **特异性:** 配制含6%高氯酸的水溶液，作为空白溶液；分别称取一定量的上述表1中8个标准品，加入一定量空白溶液溶解，并稀释至浓度为20 ng/ml的标准工作溶液。分别取上述两份溶液进样5  $\mu$ l，提取离子流图如下。空白溶液中，在待测物保留时间处无干扰，见图2。20 ng/ml的标准工作溶液，见图3，8个代谢物峰形良好，且代谢物响应高，表明仪器的灵敏度高。

2. **线性范围:** 用空白溶液分别逐级稀释8个代谢物至工作溶液浓度分别为0.2 ng/ml, 1 ng/ml, 2 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 100 ng/ml, 200 ng/ml, 500 ng/ml，以峰面积对浓度做标准曲线。图4分别为8个代谢物的线性方程和相关系数，可见相关系数均在0.992以上，表明相关系数良好，线性良好。

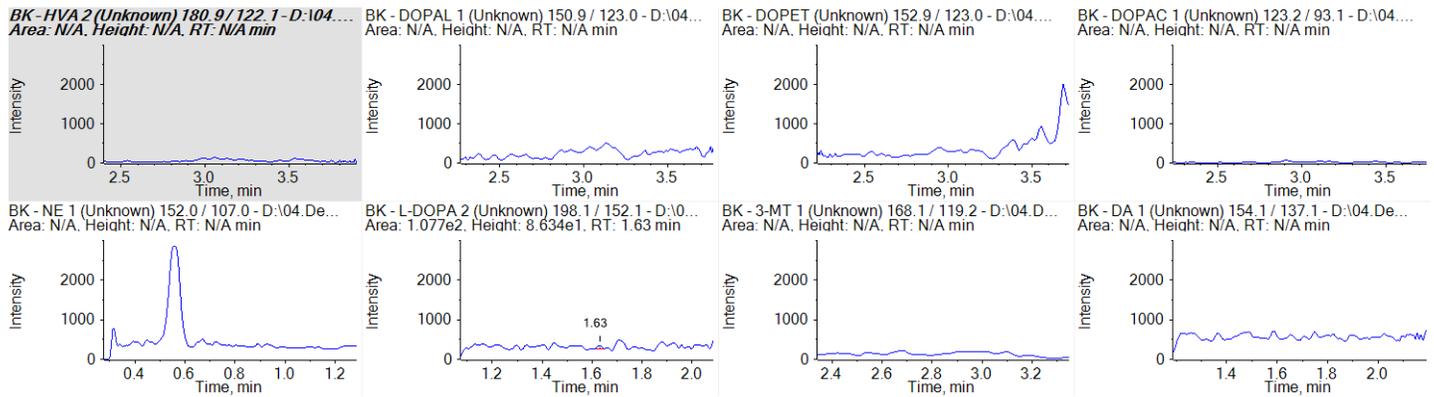


图2. 空白溶液中的提取离子流图

(从左到右，第一行分别为HVA, DOPAL, DOPET, DOPAC；第二行分别为NE, L-DOPA, 3-MT, DA)

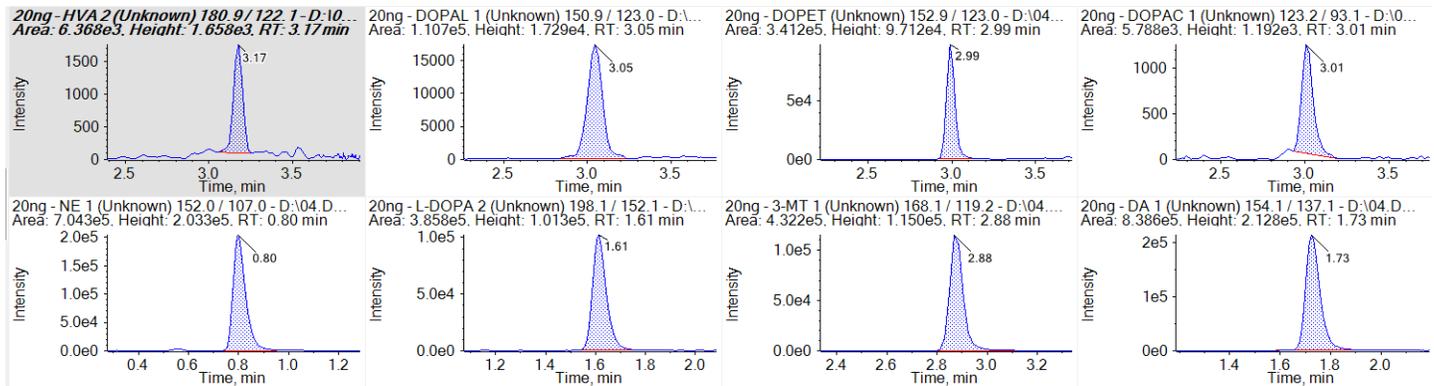


图3. 20 ng/ml溶液的提取离子流图

(从左到右，第一行分别为HVA, DOPAL, DOPET, DOPAC；第二行分别为NE, L-DOPA, 3-MT, DA)

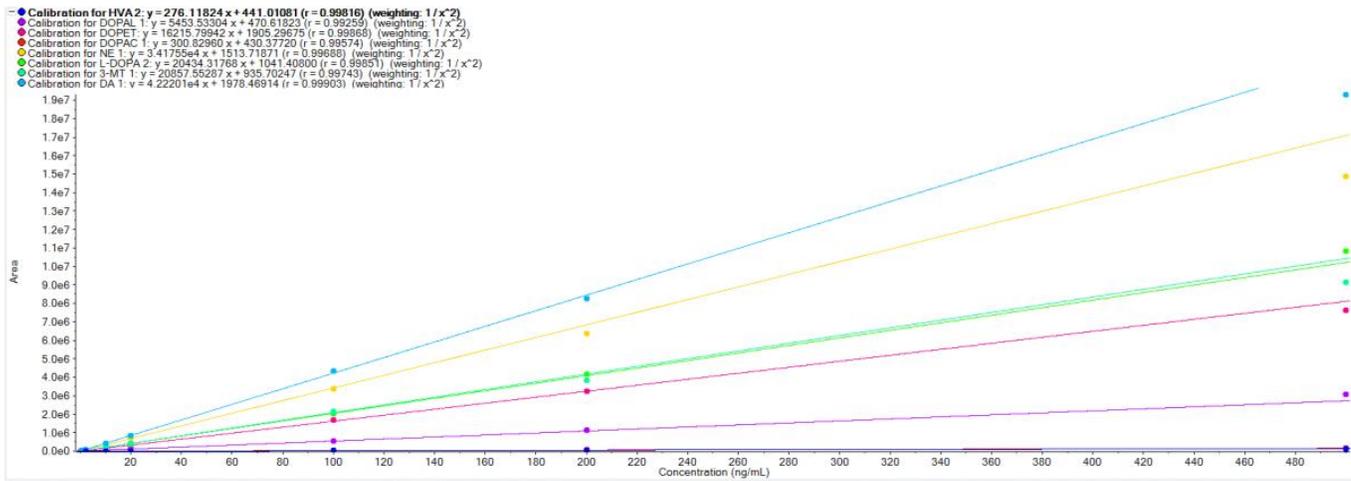


图4. 8个代谢物的标准曲线

3. **LLOQ的准确度和重现性:** 平行制备3份线性最低点工作溶液作为LLOQ溶液, 进样分析, 测定结果如下表格2。3份平行样品中, 8个化合物在不同的LLOQ浓度下的准确度在97.32%-107.26%, 准确度良好; RSD%在1.97%-5.18%, RSD均满足测试要求, 重现性良好。

表2. 重现性测试结果

化合物名称	最低定量限 (LLOQ, ng/ml)	准确度 (Accuracy, %)	相对标准偏差 (RSD, %)
HVA	2	98.33	4.58
DOPAL	1	107.26	3.57
DOPET	0.2	100.19	4.24
DOPAC	2	101.83	5.18
NE	0.2	99.66	2.18
L-DOPA	0.2	97.32	3.83
3-MT	0.2	98.57	4.10
DA	0.2	98.95	1.97

## 总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 建立了LC-MS/MS方法测定多巴胺通路上的多巴胺及其代谢物的含量。空白溶剂中无干扰, 方法的特异性好; 8个代谢物的最低定量下限在0.2-2ng/ml, 表明仪器的灵敏度高。HVA和DOPAC的线性范围均为2ng/ml-500ng/ml, DOPAL的线性范围均为1ng/ml-500ng/ml, DOPET, NE, L-DOPA, 3-MT和DA的线性范围宽均为0.2ng/ml-500ng/ml, 线性关系良好; 8个代谢物的最低定量下限连续进样3针, RSD在1.97%-5.18%, 表明仪器和方法的重现性好。该方法为开展帕金森等相关疾病上的多巴胺及其代谢物的测试工作提供了参考。

## 参考文献

- [1] H. Ehringer, O. Hornykiewicz, Klin. Wochenschr. 1960, 38, 1236-1239.
- [2] O. Hornykiewicz, Mov. Disord. 2002, 17, 501-508.
- [3] Angew. Chem. Int. Ed. 2019, 58, 6512-6527.

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-02-13256-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)