

基于SCIEX LC-MS/MS系统同步测定血清中的精胺、亚精胺、腐胺及尸胺

Simultaneous Determination of Spermine, Spermidine, Putrescine, and Hexamethylenediamine in Human Serum on a SCIEX LC-MS/MS System

王冬, 赵祥龙, 刘冰洁

Wang Dong, Zhao Xianglong, Liu bingjie

Key words: Spermine; Spermidine; Putrescine; Hexamethylenediamine; Serum

引言

精胺、腐胺和亚精胺作为内源性多胺, 在细胞增殖、自噬及核酸稳定性维持中起着核心作用。其中, 腐胺由鸟氨酸脱羧生成, 并作为前体依次合成亚精胺与精胺。研究表明, 由于其在多种实体瘤(如结直肠癌、前列腺癌和肺癌)组织中呈现特异性代谢紊乱, 这三类多胺的定量分析已成为辅助诊断与病程监测的标志物。己二胺是一种广泛用于尼龙合成等工业流程的外源性化合物, 在职业暴露情境下不仅可能引发神经毒性效应, 其进入生物体系后更会对内源性多胺的分析造成干扰, 从而影响疾病标志物解读的准确性。

因此, 在多胺的临床与科研分析中, 发展一种能够同步、精准区分并定量内源性多胺与外源性干扰物的分析方法至关重要。液相色谱质谱联用技术以其高灵敏度及卓越的特异性, 为此提供了理想的技术解决方案。

本研究采用LC-MS/MS技术, 不仅保障了内源性多胺作为肿瘤标志物的分析纯净性与诊断特异性, 也为系统评估外源性化学物暴露的健康风险提供了统一的分析框架。

实验部分

1. 样品前处理:

- 1) 移液器取100 μL血清于1.5 mL离心管中, 加入10 μL内标,

加入300 μL乙腈, 涡旋混匀2 min;

2) 15000 r/min离心10 min, 移液器移取200 μL上清液, LC-MS/MS分析。

2. 色谱质谱条件:

色谱柱: Kinetex® 2.6 μm F5 100Å 3.0 × 100mm, 流动相: A: 2 mM乙酸铵 0.5%甲酸水溶液, B: 乙腈溶液, 柱温: 40°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	95	5
1	95	5
2.5	85	15
3.0	10	90
4.0	10	90
4.1	95	5
6.0	95	5

质谱条件: ESI源

气帘气 CUR : 25 psi

碰撞气 CAD : Medium

雾化气 GS1 : 50 psi

辅助气 GS2 : 60 psi

IS电压 : +5500V

源温度 TEM : 500°C

质谱参数见表2

表2. 目标组分离离子对信息

中文名称	Name	Q1	Q3	Dwell (ms)	CE	DP
腐胺	Putrescine-1	89	72.1	32	17	30
	Putrescine-2*	89	30.1	32	36	30
尸胺	Hexamethylenediamine-1*	117	100	32	14	24
	Hexamethylenediamine-2	117	55.2	32	26	24
亚精胺	spermidine-1*	146	72.2	32	21	20
	spermidine-2	146	112.3	32	18	20
精胺	spermine-1*	203.2	112.2	32	18	27
	spermine-2	203.2	129.1	32	26	27
腐胺内标	Putrescine-d8	97	80.1	32	19	45
亚精胺内标	spermidine-d8-1*	154.2	80.1	32	23	30
	spermidine-d8-2	154.2	120.2	32	20	30
精胺内标	spermine-d8-1	211.4	120.2	32	30	30
	spermine-d8-2*	211.4	137.2	32	18	30

* 定量离子

结果与讨论

1. 色谱图

Spermine (SPM)、Putrescine (PUT)、Spermidine (SPD)、Hexamethylenediamine (1.6-DAH) 的特征图谱见图1。

2. 方法线性

表3. 标准曲线结果

名称	线性范围	线性方程	R
Spermine	0.5~200ng/mL	$Y=0.02246x-0.00218$	0.99786
Putrescine	1~400ng/mL	$Y=0.00049x+0.00029$	0.99978
spermidine	0.5~200ng/mL	$Y=0.02723x-0.00309$	0.99829
Hexamethylenediamine	0.5~200ng/mL	$Y=0.03433x+0.01193$	0.99627

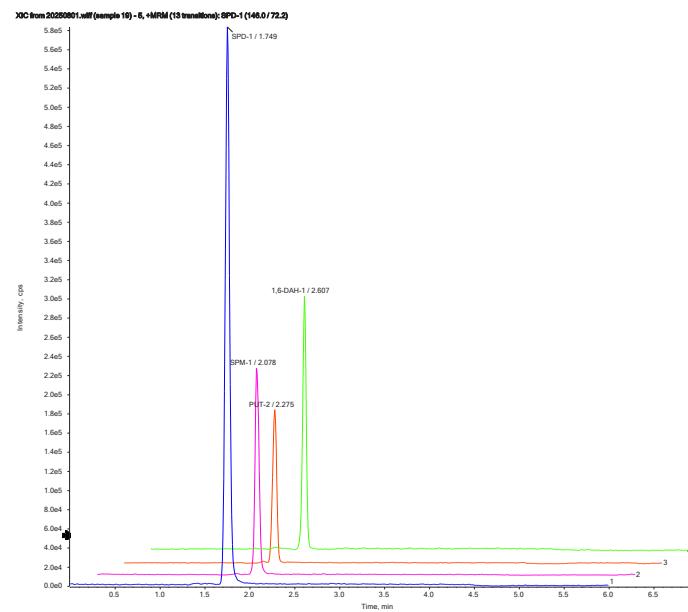


图1. Spermine (SPM)、Putrescine (PUT)、Spermidine (SPD)、Hexamethylenediamine (1.6-DAH) 的色谱图

3. 加标回收及基质效应

经过前处理后 Spermine、Putrescine、Spermidine、Hexamethylenediamine 的加标回收率 (表4) 及基质效应 (表5)，均能在 85%-115%。表明不受基质影响。

表4. 加标回收率

名称	加标浓度	回收率
Spermine	10ng/mL	98.41
	100ng/mL	91.97
Putrescine	100ng/mL	99.24
	200ng/mL	89.20
Spermidine	10ng/mL	97.37
	100ng/mL	94.29
Hexamethylenediamine	10ng/mL	103.11
	100ng/mL	107.53

表5. 基质效应

名称	浓度	基质效应
Spermine	25ng/mL	99.01
	100ng/mL	114.48
Putrescine	50ng/mL	104.34
	200ng/mL	105.51
Spermidine	25ng/mL	106.35
	100ng/mL	106.38
Hexamethylenediamine	25ng/mL	92.63
	100ng/mL	86.57

4. 血清样本色谱图

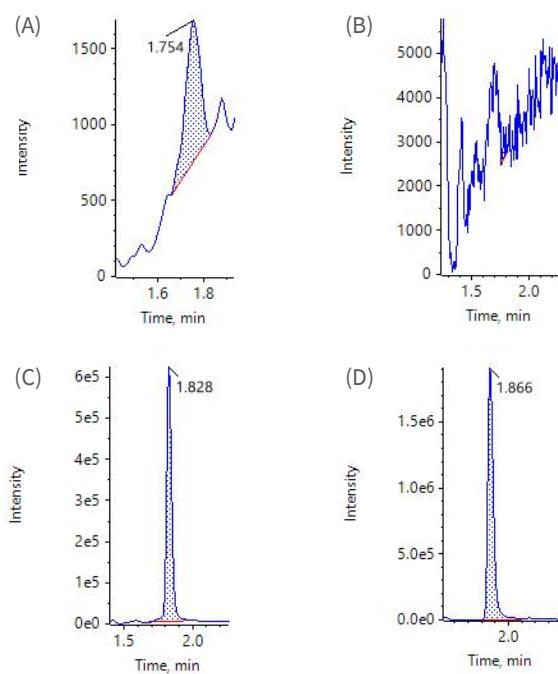


图2. (A) Putrescine (B) Hexamethylenediamine (C) Spermidine (D) Spermine

总结

基于SCIEX液相色谱质谱联用平台建立的LC-MS/MS分析方法，成功实现了对血清中内源性多胺（腐胺、亚精胺、精胺）与外源性干扰物己二胺的同步、快速与精准定量。该方法在宽动态范围内表现出良好的线性关系（ $R^2 > 0.99$ ），各目标物的加标回收率稳定在89.20%~107.53%之间，基质效应控制在86.57%~114.48%，体现了优异的准确度与可靠性。LC-MS/MS技术凭借其高灵敏度、高选择性及卓越的分离能力，有效克服了复杂生物基质中结构类似物的共洗脱与干扰问题，不仅为肿瘤相关多胺代谢研究提供了可靠的分析工具，也为排除外源性己二胺暴露对标志物解读的干扰提供了关键技术支撑，充分彰显了其在复杂生物样本精准分析中的核心优势。

参考文献

- [1] Rossi, M.N.; Cervelli, M. Polyamine Metabolism and Functions: Key Roles in Cellular Health and Disease. *Biomolecules* 2024, 14, 1570.
- [2] Alfieri, M.L.; Panzella, L.; Oscurato, S.L.; Salvatore, M.; Avolio, R.; Errico, M.E.; Maddalena, P.; Napolitano, A.; Ball, V.; d' Ischia, M. Hexamethylenediamine-Mediated Polydopamine Film Deposition: Inhibition by Resorcinol as a Strategy for Mapping Quinone Targeting Mechanisms. *Front. Chem.* 2019, 7, 407.

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。

© 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-36905-A

SCIEX中国

北京分公司
北京市昌平区生命科学园科学园路
18号院A座一层
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

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