

# 基于 LC/MS 的血清胆汁酸代谢轮廓快速定量方法 及其在宫颈癌研究中的应用

陈 静<sup>1</sup>, 单圆鸿<sup>1</sup>, 路 鑫<sup>1</sup>, 万小平<sup>2</sup>, 许国旺<sup>1</sup>

(1. 中国科学院大连化学物理研究所, 分离分析重点实验室, 辽宁 大连 116023;

2. 上海交通大学附属第一人民医院妇产科, 上海 200080)

## Rapid Quantification of Serum Bile Acid Profiles Based on High Performance Liquid Phase Chromatography-Mass Spectrometry and Its Application in Woman Cervical Cancer

CHEN Jing<sup>1</sup>, SHAN Yuan-hong<sup>1</sup>, LU Xin<sup>1</sup>, WAN Xiao-ping<sup>2</sup>, XU Guo-wang<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Separation Science for Analytical Chemistry, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China; 2. Department of Obstetrics and Gynaecology, the First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China)

**Abstract:** A simple and rapid method for the analysis of 12 bile acids was developed based on LC/MS. Quantification was finished in 7 min. For different bile acids, the detection limits ranged from 0.006 to 0.052 mg·L<sup>-1</sup>. The linear range was 2-3 magnitudes. The precisions of pretreatment for each bile acid were CVs < 10% except GCA. The developed method was applied to the analysis of human serums consisting of 22 cervical cancer women and 25 healthy women. The results revealed that GUDCA, GCDCA, TUDCA, TCDC, TDCA, UDCA, CDCA and GCA were significantly increased in cervical cancer women.

**Key words:** LC/MS; metabolites profiling; bile acids; quantification

中图分类号: O 657.63      文献标识码: A      文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0109-02

胆汁酸是一类具有重要生理功能的化合物。本工作基于液相色谱-质谱联用技术建立了血清中12种胆汁酸的快速定量方法, 并考察了宫颈癌病人和健康人群血清中胆汁酸的含量。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

超高效液相色谱系统: 美国Waters公司产品, 色谱柱为BEH C<sub>18</sub>柱 (2.1×50 mm); SQD四极杆质谱仪: 美国Waters公司产品, 配有电喷雾离子源。胆酸 (CA)、甘氨酸结合胆酸 (GCA)、牛磺酸结合胆酸 (TCA)、脱氧胆酸 (DCA)、甘氨酸结合脱氧胆酸 (DGCA)、牛磺酸结合脱氧胆酸 (DTCA)、鹅脱氧胆酸 (CDCA)、甘氨酸结合鹅脱氧胆酸 (GCDCA)、牛磺酸结合鹅脱氧胆酸 (TCDC)、熊脱氧胆酸 (UDCA)、甘氨酸结合熊脱氧胆酸 (GUDCA)、牛磺酸结合熊脱氧胆酸 (TUDCA): 均购自sigma公司。

### 1.2 样品处理

在血清样品中加入乙腈沉淀蛋白, 上清液冻干重溶上样。

作者简介: 陈 静 (1983~), 女 (布依族), 贵州人, 博士研究生, 分析化学专业。E-mail: everchenjing@yahoo.com.cn

通信作者: 许国旺 (1963~), 男 (汉族), 浙江人, 研究员, 博士生导师, 分析化学专业。E-mail: xugw@dicp.ac.cn

### 1.3 仪器测量

采用负离子模式进行检测,毛细管电压3 500 V,锥孔电压30 V,离子源温度120 °C,电喷雾气(脱溶剂气)温度300 °C,电喷雾气流量(脱溶剂气流量)600 L·h<sup>-1</sup>,锥孔气流量50 L·h<sup>-1</sup>。使用选择离子扫描模式进行检测,选择的离子有:*m/z* 407 (CA)、*m/z* 464 (GCA)、*m/z* 514 (TCA)、*m/z* 391 (CDCA、DCA、UDCA)、*m/z* 448 (GCDCA、GDCA、GUDCA)、*m/z* 498 (TCDCA、TDCA、TUDCA)。色谱分离采用二元梯度洗脱,流动相为0.1%甲酸水溶液和乙腈。洗脱程序为:乙腈的初始比例为15%并保持1 min,在2 min时乙腈比例提高到40%,6 min时乙腈比例为44%,8 min时乙腈比例为66%,8.1 min时乙腈比例为100%并保持到第10 min,然后用15%乙腈平衡色谱柱2 min。柱温保持在60 °C。进样量为3 μL。

## 2 结果与讨论

### 2.1 样品处理

样品处理过程简单。除GCA外,11种胆汁酸的预处理过程精密度好,RSD在2%~9.8%之间。

### 2.2 测量条件

12种胆汁酸在7 min内得到分离,实现了高通量分析。12种胆汁酸在LC/MS上的分离效果示于图1,具有相同质荷比的胆汁酸都得到了基线分离。

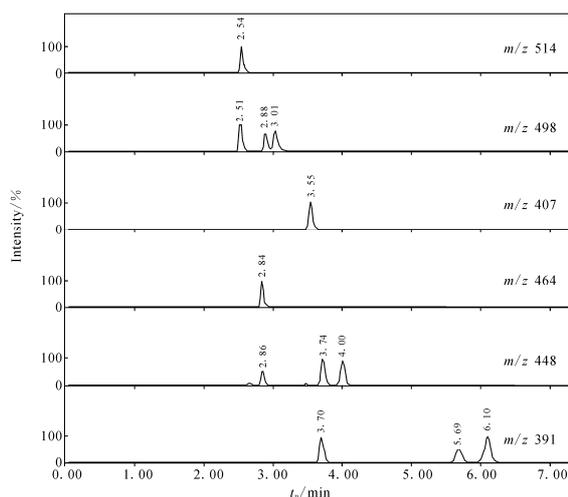


图1 12种胆汁酸的LC/MS分离图

## 3 小结

本工作利用相对简单的方法对12种胆汁酸进行了同时定量,该方法快速、简便。预处理过程简单、重现性好,除GCA外,RSD均低于10%。在7 min内实现了对12种胆汁酸进行同时定量。线性范围在2~3个数量级,12中胆汁酸的检测下限为0.006 1~0.052 4 mg·L<sup>-1</sup>。基于此方法,测量了22例宫颈癌病人和25例健康人血清中的胆汁酸含量,发现宫颈癌血清中CA、GUDCA、GCDCA、TUDCA、TCDCA、TDCA、UDCA、CDCA、GCA含量均显著升高。提示在宫颈癌的发病过程中,胆汁酸代谢发生了变化。

### 参考文献:

- [1] PLUMB R S, RAINVILLE P D, POTTS W B, et al. Application of ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry to profiling rat and dog bile[J]. Journal of Proteome Research, 2009, 8: 2 495-2 500.
- [2] BURKARD I, von ECKARDSTEIN A, RENTSCH K M. Differentiated quantification of human bile acids in serum by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2005, 826: 147-159.