

头发中内源性类固醇激素的气相色谱-串联质谱分析

沈 敏, 向 平, 沈保华, 王萌烨

(司法部司法鉴定科学技术研究所 上海市法医学重点实验室, 上海 200063)

摘要 :建立了建康人头发中内源性类固醇兴奋剂睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮和脱氢表雄酮的气相色谱-串联质谱 (GC-MS/MS) 分析方法。头发经碱水解后,以乙醚提取,经衍生化后采用 GC-MS/MS 的多反应监测模式 (MRM) 分析。方法的线性关系良好,检出限达 0.1 ~ 0.2 pg/mg,提取回收率为 74.6% ~ 104.5%;日内测定的准确度为 90.1% ~ 113.7%,日内及日间测定的精密度均小于 17.5%。应用所建立的方法测定了 80 例中国健康人头发中睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮和脱氢表雄酮的生理水平,为内源性类固醇兴奋剂滥用的判断提供了方法和基础数据。

关键词 :气相色谱-串联质谱;内源性类固醇激素;毛发

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2008)04-0454-06 栏目类别 :兴奋剂检测方法专栏

Determination of endogenous anabolic steroids in hair using gas chromatography-tandem mass spectrometry

SHEN Min, XIANG Ping, SHEN Baohua, WANG Mengye

(Institute of Forensic Sciences, Ministry of Justice, Shanghai Key Laboratory of Forensic Medicine, Shanghai 200063, China)

Abstract : A method of gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was developed for the simultaneous identification and quantification of five endogenous anabolic steroids (testosterone, epitestosterone, androsterone, etiocholanolone, dehydroepiandrosterone) in hair. After alkaline hydrolysis, the hair sample was extracted with diethyl ether, derivatized with a derivatization reagent (*N*-methyl-*N*-trimethylsilyl-trifluoroacetamid/iodotrimethylsilane/DL-dithiothreitol, 1 000:5:5, v/v/w) and detected using GC-MS/MS in the multiple-reaction monitoring mode. The one precursor/two product ion transitions for each anabolic steroids were monitored. The limits of detection for five endogenous anabolic steroids were in the range of 0.1 – 0.2 pg/mg. All analytes showed good linearity and the extraction recoveries were 74.6% – 104.5%. The inter-day and intra-day relative standard deviations (RSD) were less than 17.5%. This method has been applied to the analysis of testosterone, epitestosterone, androsterone, etiocholanolone, dehydroepiandrosterone in 80 Chinese hair samples. These data are the suitable references and the basis for the interpretation of the results from endogenous steroids abuse.

Key words : gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS); endogenous steroids ; hair

随着国际竞技体育领域反兴奋剂力度的加大和兴奋剂检测技术的发展,部分运动员更多地选择使用隐蔽性更强的内源性类固醇兴奋剂。内源性类固醇激素由人体自身分泌产生,主要包括睾酮(testosterone)、表睾酮(epitestosterone)、雄酮(androsterone)、苯胆烷醇酮(etiocholanolone)和脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)等。由于常规的尿液分析难以区分目标物内源性类固醇激

素的来源,因而内源性类固醇激素检测结果的评判至今仍是兴奋剂检测中的一个难题,各国反兴奋剂研究人员试图通过多种途径寻找判定依据^[1-5]。

毛发中常见滥用药物分析已有较长的研究和应用历史^[6,7],其证据性质已得到大部分国家的法庭认可。毒物分析工作者根据以往研究的积累,认为毛发分析在兴奋剂检测领域应有良好的应用前景,并试图利用毛发分析的长检测时限和反映用药史的

特点来判断是单次还是长期滥用兴奋剂 ,以替代“飞行药检” ;利用毛发中药物原体大于代谢物的特点鉴别进入体内目标物的形态(酯或衍生物) ,有望区分外源性和内源性物质 ,提供运动兴奋剂滥用的辅助证据。

本研究是毛发中合成类固醇兴奋剂检测的基础性研究工作 ,即建立气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)分析头发中内源性类固醇睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮和脱氢表雄酮的方法 ,测定中国正常人群头发中内源性类固醇激素的水平 ,为内源性类固醇兴奋剂滥用的判断提供了方法和依据。

1 实验部分

1.1 药品与试剂

睾酮、表睾酮、DHEA、雄酮、苯胆烷醇酮和 D₃-睾酮(内标)标准品购自 Cerilliant 公司和国家麻醉品实验室 ,黑色素(melanin)和甲醇购自 Sigma 公司 ,衍生化试剂 *N*-methyl-*N*-trimethylsilyl-trifluoroacetamide(MSTFA)和碘代三硝基甲烷购自 Sigma-Aldrich 公司 ,DL-二硫苏糖醇购自 Fluka 公司 ,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 样品制备

头发样品采自中国健康志愿者 ,其中 45 名男性 ,35 名女性。头发均为贴头皮采集 3 cm 长 ,并置于室温下保存。

头发样品分别用 0.1% 十二烷基磺酸钠(SDS)、0.1% 洗洁净、丙酮振荡洗涤一次 ,晾干后剪成 2 ~ 3 mm 长度 ,保存供检。

称取处理的头发样品 50 mg ,加入 100 pg D₃-睾酮、1 mL 1 mol/L NaOH 溶液 ,于 80 ℃ 水浴中水解 30 min。取出冷却后用 1 mol/L HCl 调至近中性 ,加入 1 mL pH 6.8 的磷酸缓冲液及 3.5 mL 乙醚 ,混旋、离心 ,将上清液转移至另一离心管中 ,于 45 ℃ 下用空气吹干。残余物中加入 50 μL 衍生化试剂(MSTFA-碘代三硝基甲烷-DL-二硫苏糖醇(1 000:5:5 ,v/v/w) ,于 60 ℃ 下衍生化 30 min ,取 2 μL 衍生液进行 GC-MS/MS 分析。

1.3 GC-MS/MS 条件

1.3.1 色谱条件

Agilent 6890 气相色谱仪 ,配 Agilent 7683B 自动进样器。Agilent HP1 毛细管柱(30 m × 250 μm × 0.1 μm) ,载气为氦气 ,流速 1 mL/min ,进样口温度 250 ℃ ;吹扫时间 1 min ,吹扫速率 60 mL/min ;进样体积 2 μL。柱温升温程序 :初始温度 180 ℃ ,保持 2 min 后以 3 ℃/min 的速率升至 224 ℃ ,再以 15 ℃/min 的速率升至 300 ℃ ,保持 2 min。

1.3.2 质谱条件

Quattro Micro 气相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司)。电子轰击离子源(EI) ,轰击能量 70 eV ,正离子化模式 ;离子源温度 220 ℃ ,GC 接口温度 300 ℃ ;碰撞气为氩气 ,压力为 47.58 Pa(3 mTorr)。采用多反应监测方式(MRM) ,每种目标物选择 1 个母离子和 2 个子离子进行监测。分析 5 种内源性类固醇激素衍生物的母离子、子离子、碰撞能量和保留时间见表 1。

表 1 测定目标化合物衍生物的 MS/MS 参数
Table 1 MS/MS parameters for target component derivatives

Derivative	Parent ion (<i>m/z</i>)	Product ions (<i>m/z</i>)	Impact energy/ eV	<i>t_R</i> / min
Testosterone	432	417	10	17.12
		209	15	
Epitestosterone	432	417	15	16.29
		209	15	
Androsterone	434	419	10	14.41
		329	15	
Etiocholanolone	434	419	10	14.21
		329	15	
Dehydroepiandrosterone	432	417	10	15.73
		327	10	
D ₃ -Testosterone	435	209	15	17.11
		420	15	

1.4 方法的验证

由于正常人头发中存在内源性类固醇 ,以头发为基质无法进行方法的有效性验证 ,故本文根据头发中的药物主要与黑色素结合的机理 ,参照文献 [8] 的方法 ,以 1 mL 1 mol/L NaOH 溶液中加入 0.5 mg 黑色素为基质 ,添加各目标物标准品进行方法学各指标的评价。

2 结果与讨论

2.1 方法的选择性

以加入 0.5 mg 黑色素的 1 mL 1 mol/L NaOH 溶液为基质 ,经水解、提取、衍生化后分析 ,结果见图 1。由图 1 可见基质对内源性类固醇睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮、DHEA 及内标的测定无显著的影响 ,具有很好的特异性。

2.2 线性回归方程和检出限

在含 0.5 mg 黑色素的 1 mL 1 mol/L NaOH 溶液中加入不同质量的睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮、DHEA 标准品 ,配成毛发中目标物含量为 0.2 ~ 200 pg/mg 的样品 ,按照所建立的方法进行分析和分析。以目标物和内标峰面积的比值 *y* 为纵坐标 ,目标物的含量 *x* 为横坐标进行线性回归 ,得到的线性回归方程、相关系数 *r*、线性范围见表 2。*r*² 值均大于 0.995 ,表明方法具有良好的线性关系。

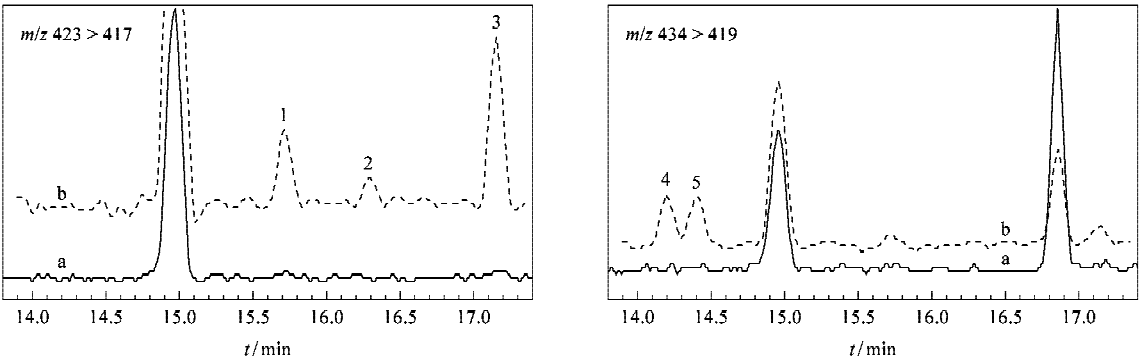


图 1 (a)空白样品和(b)空白样品中添加 1 pg/mg 的目标物标准品的 MRM 色谱图
Fig. 1 MRM chromatograms of (a) blank sample and (b) the blank sample spiked with standards at 1 pg/mg
1. dehydroepiandrosterone ;2. epitestosterone ;3. testosterone ;4. androsterone ;5. etiocholanolone.

表 2 测定 5 种类固醇激素的线性方程、线性范围、线性相关系数、检出限及定量限

Table 2 Linear equations , linear ranges , limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQ) for the determination of five anabolic steroids

Component	Regression equation *	r^2	Linear range/(pg/mg)	LOD/(pg/mg)	LOQ/(pg/mg)
Testosterone	$y = 0.1003x + 0.0107$	0.9980	0.2 – 200	0.1	0.2
Epitestosterone	$y = 0.1245x + 0.0178$	0.9973	0.2 – 100	0.1	0.2
Androsterone	$y = 0.2725x + 0.0197$	0.9951	0.2 – 100	0.1	0.2
Etiocholanolone	$y = 0.1075x + 0.0305$	0.9953	0.2 – 100	0.1	0.2
Dehydroepiandrosterone	$y = 0.3011x + 0.0223$	0.9969	0.5 – 200	0.2	0.5

* y : peak area ratio of analyte and internal standard ; x : content of the analyte , pg/mg.

逐渐降低添加标准品的含量 ,以信噪比(S/N) 大于 3 确定方法的检出限(LOD) ,以 $S/N \geq 10$ 确定方法的定量限(LOQ) ,结果见表 2。

2.3 准确度和精密度

分别在含 0.5 mg 黑色素的 1 mL 1 mol/L NaOH 溶液中添加不同质量的 睾酮、表睾酮、DHEA、雄酮、苯胆烷醇酮 ,配制成高、中、低 3 个含量水平的质控样品。每天取各含量水平的样品 6 个进行测定 ,连续测定 4 d ,计算日内和日间测定的准确度及精密度 ,结果见表 3。方法的日间及日内精密度均小于 17.5% ,准确度为 94.8% ~ 113.7%。

表 3 方法的准确度和精密度

Table 3 Accuracies and precisions of the method

Component	Added/ (pg/mg)	Accuracy ¹⁾ / %($n = 6$)	RSDs/%	
			inter-day ²⁾	intra-day ³⁾
Testosterone	1	113.7	11.7	10.5
	50	99.7	6.2	5.8
	200	95.2	7.8	5.0
Epitestosterone	1	101.1	11.4	16.8
	50	97.7	5.9	5.8
	200	97.7	5.0	5.3
Etiocholanolone	1	113.2	10.5	17.4
	50	94.8	4.7	12.1
	200	98.3	7.2	9.2
Androsterone	1	109.2	6.3	16.6
	50	96.6	7.7	7.2
	200	104.2	7.0	6.8
Dehydroepiandrosterone	1	90.1	16.5	14.5
	50	96.4	6.1	8.3
	200	97.2	5.8	8.8

1) $n = 6$; 2) $n = 6$; 3) $n = 6 \times 4$.

2.4 提取回收率

分别对毛发中目标物含量为 50 200 pg/mg 的质控样品进行测定 ,将测定值与相同浓度未经处理的标准溶液的测定结果比较 ,得到 睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮和 DHEA 的提取回收率(见表 4)。

表 4 方法的提取回收率($n = 6$)

Table 4 Extraction recoveries of the method ($n = 6$) %

Added/ (pg/mg)	Testost- erone	Epitostos- terone	Androst- erone	Etiochola- nolone	DHEA
50	92.9	91.3	104.5	104.1	86.95
200	80.7	74.6	92.8	91.8	84.7

2.5 样品测定

按所建立的方法对收集的头发样品进行处理与分析 ,结果见表 5。从表 5 可见 ,所有健康志愿者头发中均可检测出 睾酮和 DHEA ,而头发中表睾酮、雄酮和苯胆烷醇酮的含量较低 ,除少数几例外 ,大部分人的雄酮含量为 0 ~ 4.9 pg/mg ,苯胆烷醇酮的含量为 0 ~ 2.9 pg/mg ,表睾酮的含量为 0 ~ 8.7 pg/mg。关于正常人头发中表睾酮、雄酮和苯胆烷醇酮的生理水平尚未见文献报道。正常人尿液中具有较高生理水平的表睾酮、雄酮和苯胆烷醇酮^[5] ,但在头发中出现了相反的结果 ,这可能与药物的化学性质有关。药物进入毛发的程度与药物的亲脂性密切相关 ,亲脂性强则易进入头发 ,而雄酮和苯胆烷醇酮是内源性类固醇代谢的最终产物 ,因极性较强而难以进入头发。

表 5 中国人头发中内源性类固醇激素水平
Table 5 Levels of endogenous steroids in hair samples of Chinese people

No.	Sex	Age/ year	α Testosterone)/ (pg/mg)	α DHEA)/ (pg/mg)	α Androsterone)/ (pg/mg)	α Etiocholanolone)/ (pg/mg)	α Epitestosterone)/ (pg/mg)
1	M	29	3.1	28.5	2.7	2.9	ND *
2	M	40	24.2	224.7	16.4	23.5	ND
3	M	44	7.9	77.3	0.3	0.4	0.6
4	M	37	14.0	69.5	0.6	0.6	1.2
5	M	30	5.0	428.3	1.2	1.2	2.0
6	M	20	7.9	73.2	0.8	0.6	0.8
7	M	46	5.2	232.7	1.5	1.1	ND
8	M	45	13.7	337.7	20.2	ND	2.7
9	M	55	9.3	36.6	3.5	2.0	1.4
10	M	28	12.3	30.7	1.3	0.5	1.0
11	M	19	8.5	70.5	1.4	1.0	ND
12	M	34	20.2	25.7	0.6	ND	ND
13	M	24	8.6	54.7	2.3	0.7	0.9
14	M	23	6.3	33.1	2.2	0.8	ND
15	M	40	4.9	26.7	0.3	0.5	0.6
16	M	30	4.7	30.1	1.4	0.5	ND
17	M	20	20.1	104.0	4.9	ND	ND
18	M	25	8.1	361.1	1.9	0.4	ND
19	M	44	8.1	170.9	4.1	0.9	ND
20	M	30	6.9	35.4	1.3	0.2	ND
21	M	20	3.8	46.4	2.0	0.5	ND
22	M	20	6.1	27.8	1.6	0.6	0.9
23	M	52	3.0	36.0	0.8	0.4	ND
24	M	24	1.3	35.6	1.6	0.3	0.7
25	M	44	3.7	40.2	1.2	0.7	ND
26	M	32	4.6	28.3	0.4	0.2	0.2
27	M	18	9.0	41.1	0.4	0.5	ND
28	M	52	9.7	91.5	0.5	0.7	0.5
29	M	22	6.0	41.7	0.7	0.2	ND
30	M	28	3.3	39.1	0.7	0.9	1.0
31	M	40	5.3	34.7	0.7	0.8	0.6
32	M	35	13.2	52.4	2.0	1.0	1.3
33	M	61	4.0	15.3	1.7	ND	1.1
34	M	30	6.0	47.0	1.1	0.6	ND
35	M	60	0.8	13.5	0.5	0.4	ND
36	M	22	1.5	13.7	0.7	0.8	ND
37	M	34	4.2	41.7	3.0	0.5	5.0
38	M	46	3.1	25.9	ND	0.2	ND
39	M	40	1.0	23.4	2.0	0.7	1.0
40	F	26	3.0	37.7	1.8	1.1	2.1
41	F	42	15.2	70.1	0.4	0.6	3.5
42	F	37	2.8	44.2	2.3	0.6	1.1
43	F	24	8.9	29.1	0.8	0.8	1.3
44	F	53	6.7	32.3	0.8	0.3	0.2
45	F	72	9.3	86.4	0.2	0.1	ND
46	F	19	0.5	28.7	0.6	0.4	0.4
47	F	27	16.8	26.2	2.9	ND	ND
48	F	20	1.6	48.3	1.1	0.5	ND
49	F	53	15.5	57.7	0.3	ND	0.6
50	F	49	2.5	8.7	0.5	0.9	0.3
51	F	38	0.1	22.7	0.3	0.5	1.1
52	F	32	4.2	27.4	0.6	0.3	8.7
53	F	55	6.4	34.5	0.6	0.4	0.5
54	F	42	1.8	52.5	ND	ND	0.8
55	F	42	0.3	20.1	0.9	0.2	ND

表 5 （续）
Table 5 （Continued）

No.	Sex	Age/ year	α Testosterone)/ (pg/mg)	α DHEA)/ (pg/mg)	α Androsterone)/ (pg/mg)	α Etiocholanolone)/ (pg/mg)	α Epitestosterone)/ (pg/mg)
56	F	31	1.0	31.2	2.2	ND	1.3
57	F	46	2.8	52.0	ND	ND	ND
58	F	25	9.0	45.0	2.5	1.0	ND
59	F	29	14.3	27.3	4.0	ND	ND
60	F	23	5.8	19.3	1.2	0.2	ND
61	F	36	2.3	9.4	0.2	0.3	ND
62	F	20	0.5	571.8	1.4	ND	ND
63	F	26	3.1	33.9	0.3	0.4	ND
64	F	37	0.3	20.3	3.5	ND	1.6
65	F	37	1.6	10.6	ND	ND	ND
66	F	30	5.3	27.6	0.7	0.3	37.4
67	F	19	0.7	33.6	0.3	0.2	0.2
68	F	80	7.6	75.0	0.3	0.2	0.1
69	F	58	8.4	29.6	0.2	0.3	0.2
70	M	10	0.2	7.5	0.4	0.0	ND
71	M	16	11.5	26.3	1.2	0.4	0.6
72	M	10	4.9	106.1	4.4	1.5	ND
73	M	17	1.2	22.0	ND	ND	ND
74	M	4	2.8	6.0	0.3	0.2	0.0
75	M	2	0.7	6.0	0.2	0.1	ND
76	M	2	1.1	5.3	0.2	0.3	ND
77	M	13	2.2	12.2	0.6	0.3	ND
78	F	17	2.3	55.5	1.3	0.5	ND
79	F	13	0.8	9.5	0.3	0.3	ND
80	F	10	1.4	7.9	0.1	ND	ND

* ND :not detected.

本文研究了 80 例健康中国人头发中睾酮的测定结果,与文献报道的结果进行比较(见表 6)。Deveaux 等^[9]将 100 mg 头发样品碱水解后用乙酸乙酯提取,然后采用放射免疫方法分析。Scherer 等^[10]采用七氟丁酸酐衍生化、Kintz 等^[8 ,11]和 Wheeler 等^[12]采用和本研究一致的衍生化方法并

表 6 不同受试者头发中的睾酮含量

Table 6 Level of testosterone in hair samples from different subjects

Data source	Subject	Age/ year	Number	Mean/ (pg/mg)	Range/ (pg/mg)
Our research	male	18 – 61	39	7.5	0.8 – 24.2
	female	19 – 80	30	5.3	0.1 – 16.8
	children	2 – 17	11	2.6	0.2 – 11.5
[9]	male	18 – 50	12	10.7	3.6 – 23.3
	female	23 – 54	9	3.6	1.7 – 6.4
	children	5 – 14	4	1.7	0.6 – 2.7
[10]	male	– *	6	2.7	2.5 – 4.2
	female	–	6	1.7	1.0 – 3.4
[11]	male	16 – 63	26	3.8	1.2 – 11.4
[8]	male	17 – 42	15	2.7	0.5 – 9.8
	female	17 – 42	12	–	ND – 2.4
[12]	male	21 – 65	22	14.8	5.6 – 33.6
	female	17 – 55	19	1.8	0.4 – 4.7
	children	5 – 10	6	2.1	–

* :non-availble.

进行 GC-MS 分析。但无论采用何种方法分析,由表 6 中结果可见,中国人和其他人种的头发中睾酮的含量基本上一致,均在 pg/mg 水平。成年男性头发中睾酮含量高于成年女性,而儿童头发中睾酮含量相对成年人则较低。表 6 所列数据均为非运动员的健康人群数据,由于内源性类固醇激素可由人体自身分泌产生,不同人群和个体间存在一定的差异,因此运动员群体的睾酮水平是否在此范围内尚不清楚。根据 Kintz 等^[13]的阳性案例报道,滥用睾酮者头发中睾酮的含量分别达 46 ,71 ,54 和 81 pg/mg ,表明两者之间还是存在显著的差异。

DHEA 是另一个主要的内源性类固醇,关于健康人头发中 DHEA 的生理水平仅见德国^[14]和法国^[8]的两篇研究报道,结果比较见表 7。Kintz 等^[8]曾对“本国健康人群头发中 DHEA 与睾酮处于同一水平”的研究结果表示吃惊和无法解释,因为血液中 DHEA 的含量较睾酮的含量高 100 ~ 500 倍,而头发中则完全不能反映这种差异。本研究所获得的结果与血液中 DHEA 和睾酮的含量水平的差异相一致。由于国际上对头发中 DHEA 生理水平的研究和报道甚少,尚不能对其合理性做出评价。本研究结果关于头发中 DHEA 的生理水平与睾酮有相同的性别、年龄顺序。

表 7 不同受试者头发中的 DHEA 含量
Table 7 Level of DHEA in hair samples
from different subjects

Data source	Subject	Age/ year	Number	Mean/ (pg/mg)	Range/ (pg/mg)
Our research	male	18 - 61	39	80. 7	13. 5 - 428. 3
	female	19 - 80	30	53. 8	8. 7 - 571. 8
	children	2 - 17	11	24	5. 3 - 106. 1
[14]		- *	-	-	21 - 56
[8]	male	17 - 42	15	4. 3	1. 2 - 6. 7
	female	17 - 42	12	5. 3	0. 5 - 10. 6

* : non-avaible.

内源性类固醇的存在给其阳性结果的判断带来了困难。较好的方法是建立相关人群的 cut-off 值 , 将其作为阳性结果认定的阈值。但是要建立判断内源性类固醇滥用的 cut-off 值 ,尚需各国进行更大样本和更为细致的研究。

3 结语

本文所建立的 GC-MS/MS 方法可同时测定毛发中的睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮和脱氢表雄酮等类固醇激素 ,其灵敏度、回收率、准确度、精密度均满足毛发中内源性类固醇激素测定的需要。

应用所建立的方法测定了 80 例中国健康人头发中睾酮、表睾酮、雄酮、苯胆烷醇酮和 DHEA 的生理水平 ,发现中国人和其他人种的头发中睾酮生理水平基本一致 ,成年男性头发中睾酮含量高于成年女性 ,成年人头发中睾酮含量高于儿童 ;中国人头发中 DHEA 含量远高于睾酮 ,与血液中 DHEA 的含量高于睾酮的含量的结果相一致。本研究结果为内源性类固醇兴奋剂滥用的判断提供了基础数据。

参考文献 :

[1] Dehennin L , Ferry M , Lafarge P , et al. Steroids , 1998 , 63 : 80

[2] WADA Project Team. Reporting and evaluation guidance for testosterone , epi testosterone , T/E ratio and other endogenous steroids. (2004-05-30). [http ://www. wada-ama. org/ rtecontent/document/end_steroids_aug_ 04. pdf](http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/end_steroids_aug_04.pdf)

[3] Wang J Z , Wu M T , Zhang Y N , et al. Chinese Journal of Sports Medicine (王静竹 , 吴侔天 , 张亦农 , 等. 中国运动医学杂志) , 2004 , 23 : 200

[4] Wang J Z , Wu M T , Zhang Y N , et al. Acta Pharm Sinica (王静竹 , 吴侔天 , 张亦农 , 等. 药学报) , 2005 , 40 : 159

[5] Shen M , Xiang P , Shen B H , et al. Chinese Journal of Forensic Sciences (沈敏 , 向平 , 沈保华 , 等. 中国司法鉴定) , 2007 , 3 : 19

[6] Shen M , Xiang P , Shen B H. Forensic Sci Int , 1999 , 103 : 159

[7] Shen M , Xiang P , Wu H J , et al. Forensic Sci Int , 2002 , 126 : 153

[8] Kintz P , Cirimele V , Ludes B. J Anal Toxicol , 1999 , 23 : 424

[9] Deveaux M , Mornay E , Gosset D. Physiological values of testosterone in hair : determination by radioimmunoassay. (2001-08-28). [http ://www. tiaft. org/tiaft2001/lectures/142 _deveaux. doc](http://www.tiaft.org/tiaft2001/lectures/142_deveaux.doc)

[10] Scherer C , Wachter U , Wudy S A. Analyst , 1998 , 123 : 2 661

[11] Kintz P , Cirimele V , Jeanneau T , et al. J Anal Toxicol , 1999 , 23 : 352

[12] Wheeler M J , Zhong Y B , Kicman A T , et al. J Endocrinology , 1998 , 159 : 5

[13] Kintz P , Cirimele V , Sachs H , et al. Forensic Sci Int , 1999 , 101 : 209

[14] Kintz P. Analytical and practical aspects of drug testing in hair. Boca Raton : CRC Press , 2007 : 243