液相色谱-质谱联用在兴奋剂检测中的应用及进展

秦 旸， 徐友宣， 杨树民， 朱绍棠
（中国反兴奋剂中心，北京 100029）

摘要：液相色谱-质谱联用技术已越来越广泛地应用在兴奋剂的检测中，其中包括对各类小分子兴奋剂和肽类激素等的检测。本文综述了近年来液相色谱-质谱联用在兴奋剂检测中的筛选、确证和定量方面的应用及进展情况，并讨论了相关的检测标准。

关键词：液相色谱-质谱；兴奋剂检测；综述
中图分类号：O658 文献标识码：A 文章编号：1000-8713（2008）04-0431-06 栏目类别：兴奋剂检测方法专栏

Applications and progresses of liquid chromatography-mass spectrometry in doping control

QIN Yang, XU Youxuan, YANG Shumin, ZHU Shaotang
(*China Anti-Doping Agency, Beijing 100029, China*)

Abstract: High performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) has enabled the determination of most of the prohibited drugs in doping analysis, including many small molecular doping agents and peptide hormones. This paper reviews liquid chromatography-mass spectrometry for the screening, identification and quantification of doping agents in urine and other biological samples. Criteria for the identification of compounds by LC-MS are also discussed.

Key words: liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS); doping detection; review

液相色谱-质谱（LC-MS）联用技术始于 20 世纪 70 年代，但直到 20 世纪 80 年代中后期大气压电离技术（API）得到发展且逐渐成熟后，LC-MS 才得以迅速发展，并很快成为科研和日常分析的有力工具[1-5]。LC-MS 的 API 技术是一种软电离方式，可直接测定热不稳定的极性化合物，多电荷的形成可用来分析蛋白质和脱氧核糖核酸（DNA）等生物大分子，调节离子源电压（源内碰撞诱导电离（CID）电压）可以控制离子的断裂，获取结构信息，大大拓宽了分析范围，应用前景也更为广泛。

1 兴奋剂检测中的应用

自 1980 年国际奥委会禁用兴奋剂以来，兴奋剂的检测主要以气相色谱-质谱（GC-MS）、气相色谱（GC）及液相色谱（HPLC）为主，LC-MS、液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）等联用技术在药物分析、法医学、商检、环境科学、生命科学等领域的广泛应用和蓬勃发展，也不可避免地带动了兴奋剂检测方法的改进与发展。一些过去无法检测或检测达不到要求的药物通过 LC-MS 得到了很好的控制，仅从每年一度的科隆兴奋剂年会上便可以看出，LC-MS 方面的文章呈逐年上升趋势：由 1990 年的 0 篇上升到近年来发表文章总数的 30%左右。现在，几乎所有类型的兴奋剂都可用 LC-MS 方法来检测，而且正在从对小分子兴奋剂的检测不断地扩展到对大分子兴奋剂的检测[6-9]。

1.1 小分子兴奋剂的分析

利尿剂是一类常使用于涉及重量项目的运动中的兴奋剂，并且有稀释尿液的作用，因此不论在赛内、赛外均被禁用。一般来说，利尿剂的极性强，很多实验室采用液相色谱-紫外检测的方法进行初筛，但由于紫外检测的局限性，已有研究人员转而用 LC-MS 的方法对利尿剂进行检测。目前一些实验室已经将此列入常规的分析方法[10-14]。同 GC-MS 的常规分析方法一样，处理后的尿样经 LC-MS 分析后，依据分析物的分子离子峰及相应的保留时间与对照品或阳性化合物对照，进行初步判断。发现可疑，则提取其在样品中的质量色谱峰谱图，与对照品

收稿日期：2008-06-24
通讯联系人：秦 旸，博士，研究员. Tel：(010)64946933，E-mail：qinyang@chinada.cn.
基金项目：国家科技攻关计划课题（No. 2002BA904B01）.

或阳性化合物比对；对有样品基质干扰且初步判断为阳性的色谱峰，可采用 MS/MS 调节碰撞能量进行对应的特定碎片离子扫描，获取子离子（daughter）的碎片质量谱图；或增加 CID 电压，获取质谱图，并与其对照品的相应碎片谱图对照，同时辅以理论结构推导进行比较而最终确认。

除了利尿剂外，合成类固醇、刺激剂、麻醉剂和 β-阻断剂等也被国际奥委会列为禁用药物，这些药物在体内主要以代谢产物的形式存在，如许多化合物在尿中是以葡萄糖醛酸甙或硫酸酯结合物的形式存在，这往往需要在分析中对样品进行酶解或酸解。通常认为酶解或酸解后糖苷键可以完全断裂，但是事实上这两者作用的效果是有一定差异的，因此直接用 LC-MS 来测定葡萄糖醛酸甙或硫酸酯结合物对准确观察药物的代谢情况，尤其是定量测定方面是很有意义的[15,16]。

另外，一些采用 GC-MS 方法检测结果不理想的甾体化合物也可采用 LC-MS 检测。四氢孕三烯炔酮（tetrahydrogestrinone，THG）是长期以来一直无法检测的“地下药物”。2004 年美国实验室的 Catlin 等[17]首次采用 LC-MS 对 THG 进行检测，有效地打击了美国社会 THG 兴奋剂的滥用行为。此外，一些类似的甾体化合物如群勃龙（trenbolone）、孕三烯酮（gestrinone）和宝丹酮（boldenone）等在 GC-MS 衍生化和分析时表现出较差的色谱和质谱性能，然而这些化合物所具有的质子亲和性能非常适合做 LC-MS 分析[18,19]，检出限很容易达到世界反兴奋剂委员会（WADA）的最低检出限（MRPL）的水平。

糖皮质激素同样是很早就进入国际奥委会禁用药物表内的药物，但因为 GC-MS 方法的灵敏度不够高，一直无法进入常规控制；LC-MS 的发展使糖皮质激素的检测成为可能。现在各国实验室已发展了 LC-MS 和 LC-MS/MS，包括离子阱质谱、四极杆质谱、串联质谱甚至飞行时间质谱等技术检测糖皮质激素[20－23]。其中 2004 年雅典奥运会就是采用离子阱质谱技术分析检测的糖皮质激素。

传统的检测刺激剂的方法是气相色谱（如气相色谱-氮磷检测法）和 GC-MS 技术。样品经直接液-液提取（LLE）后，采用质谱中氮磷检测技术和全扫描模式可进行快速全面的筛选。但一些异构体的分析常常受到限制，如麻黄素、伪麻黄素等。当它们作为滥用药物使用时需要进行定量检测。在 GC 条件下，这些化合物需要经衍生化才能获得基线分离。现代的 LC-MS/MS 技术无需更多的样品前处理步骤，例如：已有文献报道[24]，27 个与安非他命有关的药物已用离子阱质谱技术同时完成了筛选、定性和定量工作，该方法与传统的 GC-MS 技术相比具有灵敏、专属和快速的特点。另外，Apollonio 等[25]建立了超高压液相色谱（UPLC）方法，在不到 2 min 的时间里测定了 11 种安非他命类药物。尽管 LC-MS/MS 对检测刺激剂很有效，但对于羟苯酚烷基胺化合物，如 4-羟基安非它明、4-羟基麻黄素或 4-羟苯基乙胺这些强极性的化合物，在反相 C8 或 C18 柱上的保留时间很短，很难将目标化合物与干扰基质分开。

新合成的代谢试剂——选择性男性荷尔蒙受体调节剂（SARM）最近已进入二期和三期临床试验，Thevis 等对可能在运动中滥用的 6 个有结构差异的 SARM 类似物通过母离子扫描的方法进行了检测，对尿样中 SARM 的丙烯酸丙酸胺衍生物的检测范围可达到 1 ~ 50 ng[26]。另外一些近年来进入禁用表的药物，如芳香酶抑制剂阿那曲唑（anastrozole）、依西美坦（exemestane），也对其建立了 LC-MS 的检测方法[27]，羟乙基淀粉（HES）在酸解后也可在负离子模式下用离子阱大气压化学电离质谱（APCI-MS）进行检测[28]。

LC-MS 技术对探索药物代谢具有非常广阔的前景，这种技术可以更直接也更准确地研究药物在体内的代谢情况。筛选过程在兴奋剂控制中尤其重要，因此如何确定筛选离子是兴奋剂检测方法建立的关键。随着 LC-MS 对药物代谢的新的发现，筛选方法也得到了不断的更新和扩展。如最近报道发现了 methandienone[29] 的长效代谢物，Appolonova 等[30]用离子阱 LC-MS 检测到了麦索卡泊（mesocarb）的 10 种羟基代谢物等。这些信息的补充对有效打击兴奋剂的滥用都是非常有意义的。

串联 LC-MS 技术主要是利用母离子-子离子离子对作为筛选离子检测已知药物及其代谢物，这一筛选方法可以最大限度地提高检测灵敏度，但同时也会受到检测化合物数量的限制，对未知其相对分子质量（M_r）和断裂途径的药物在常规的 CID 条件下往往无法检测。因此，如果用有代表性的甾体的特征离子进行扫描，或结合男性激素生物测定进行高分辨质谱分析，将可以更广泛地控制和筛查甾体药物。

近年来，飞行时间质谱（TOF/MS）因为可以获得较准确的 M_r 而得到越来越广泛的应用[23,31]。Kolmonen 等[31]用固相萃取（SPE）和液相色谱-飞行时间质谱（LC-TOF/MS）检测了 124 种包括刺激剂、β-阻断剂、麻醉剂、β_2-抗肾上腺素活性的激动剂、雌激素活性制剂、利尿剂、大麻酚等不同的兴奋

剂,其中 97 种可以达到世界反兴奋剂委员会的 MRPL 水平。通过 LC-TOF/MS 所提供的保留时间、精确的质量数和同位素模式可对化合物进行确认,平均提取回收率为 58%。但是 LC-TOF/MS 仪器的成本仍然偏高,它的普及还有一定的难度。

一些样品在 LC-MS 的确证时往往还是需要进行特别的样品优化处理,使化合物能被更有效地纯化;或改变梯度进行分离,避免导致模糊的分析结果,如克伦特罗、群勃龙、地塞米松、康力龙和它的代谢物等都遇到过这样的问题。

1.2　生物大分子分析

纵观兴奋剂检测的历史,肽类激素和蛋白质一直采用免疫检测方法。近年来随着 LC-MS 技术的成熟,样品前处理技术以及仪器的选择性和特异性的不断提高,不少基于 LC-MS/MS 的检测方法也纷纷出现[32,33]。肽类激素的检测一般采用免疫亲和分离。蛋白质通过酶解后产生多个肽段,经液相色谱分离后用串联质谱获得肽的质量谱,从而对肽段进行鉴别和测定;通过蛋白质序列数据检索,得出蛋白质序列信息,从而实现对蛋白质的快速高灵敏度的鉴别和测定。

人绒毛膜促性腺激素(hCG)是 M_r 为 37 000 的糖蛋白,在女性怀孕期间大量产生。因它能诱导内部分泌产生睾丸激素,1987 年始在男性运动员中禁用。hCG 的检测一直采用免疫的方法,但免疫方法无法排除可能的交叉反应。最近 Gam 等[34]通过免疫纯化后将胰蛋白酶降解,用 LC-MS/MS 分析了标记肽 β-T5,由此获得 hCG 定性和定量的依据。

2000 年,血红蛋白载氧体(HBOC)被列入禁用表中。HBOC 是基于牛或人的血红蛋白的血液替代品,因其可以提高耐力而被滥用。如 HBOC 产品 Hemopure 的平均 M_r 约为 250 000,由分子间和分子内通过戊二醛单元交联的牛血红素组成。牛和人的血红蛋白有 15% 的氨基酸序列不同,因此蛋白酶降解后会产生相同和不同的肽段,LC-MS 可以探索牛与人的血红素初级结构之间的不同,以及在血红蛋白分子交联上的表现。如特征性的牛血红蛋白的 α 肽(肽段 69 ~ 90),其 M_r 为 2 367.2;β 肽(肽段 40 ~ 58)的 M_r 为 2 089.9;可观测到的离子分别为三价离子 m/z 790 和二价离子 m/z 1 046(包括其子离子 m/z 167 和 m/z 120),这些特征性的氨基酸序列通过 LC-MS/MS 方法可分离和确证牛和人的血红蛋白[35,36]。β-链蛋氨酸的 N-端衍生化也可作为蛋白内切酶 Glu-C 酶解血清分析的目标化合物[37],其具有特征性的肽段 MLTAEE,且其母离子 m/z 759 和 761 可产生子离子 m/z 170 和 172,这些离子对可用来筛选 HBOC 产品 Hemopure 和 Oxyglobin。此外,血红素中赖氨酸的交联阻碍了胰岛素各氨基酸残基的活性并改变了来自牛血红素和 Hemopure 的胰蛋白酶肽的比例,这对于区别人血红素和其他交联类似物非常有用。Simitsek 等[38]用二级全扫描质谱的方法确证了血红蛋白,用质谱和 MS/MS 的数据分析胰蛋白酶水解的样品并进行谱库检索,7 个肽段的特异性与预计的牛血红蛋白有很好的相关性。该方法有很多优点,如自动扫描模式无需预先选择或定义 m/z 值便可筛选未知的降解的肽段,在肽谱中选定的二价或三价的母离子可最大限度地采集最有用的数据等。

人胰岛素具有帮助肌肉糖原形成、促进蛋白生物合成和抑制肌肉蛋白分解代谢的作用,1999 年被确定为禁用药物。除了通常重组产生的人胰岛素制剂,还有大量的合成类似物如慢速和快速作用胰岛素,特别是有快速作用的胰岛素 Humalog、Novolog 和 Apidra,对此已有了新的分析方法。Thevis 等[39]通过免疫亲和色谱(IAC)、固相萃取(SPE)和微孔 LC-MS/MS 测序方法对血样和尿样中的胰岛素进行了检测。结果表明,Humalog 与人胰岛素在脯氨酸 β28 和赖氨酸 β29 的切换位置不同,Novolog 和 Apidra 的 M_r 与人胰岛素的 M_r(5 807)也不同,用多电荷的母离子的碰撞激活电离可以区分内源性产生的胰岛素与合成的类似物,子离子扫描产生的诊断离子可识别这些胰岛素类似物,检出限约为 0.05 ng/mL,因而能测定介质中正常的胰岛素水平。不少收集用来做兴奋剂检测的患有糖尿病的运动员的生物样本和大量阳性样本都验证了这些方法。胰岛素样生长因子-I(IGF-I)通常用放射免疫的方法进行筛选,在用蛋白内切酶 Asp-N 降解后可通过 LC-MS 和 LC-MS/MS 方法确证血清中低水平的 IGF-I[40]。

降糖药的作用原理是刺激胰岛素的释放来控制血糖,虽然国际奥委会和世界反兴奋剂委员会没有提出明确禁止使用降糖药物,但降糖药物仍有可能作为潜在的运动药物而使用,因而也引起了反兴奋剂领域专家们的密切关注,一些实验室报道了对这些药物的 LC-MS 检测方法[41,42],检出限可达到 10 ~ 30 ng/mL。

促红细胞生成素(EPO)因能提高载氧能力而被滥用在运动项目中,现在的分析方法主要是采用免疫印迹的方法,十分耗时。LC-MS/MS 方法有可能区分出来源不同的 EPO。Guan 等[43]发现 46 VNFYAWK52 和 144 VYSNFLR150 分别来自人重组促红细胞生成素(rhEPO)和 DPO(darbepoetin-

alpha)。Stubiger 等[44] 用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF/MS)分析尿和血清中的 EPO 和 rhEPO,通过它们之间多糖结构的不同,可以观察到 EPO-α、EPO-β 和 NESP 的 N-多糖组成的不同。

新纳森(Synacthen)是属于促肾上腺皮质激素的一种肽类激素,最近也在人血样的测定中采用免疫纯化和 LC-MS/MS 进行分析[45]。Synacthen 肽含有 24 个氨基酸和模拟的促肾上腺皮质激素,可影响内分泌而产生可的松。因其分子相对较小,无需进一步酶解便可通过多反应监测获得明确的信息,包括监测 4 价离子和诊断子离子 m/z 223。受试样和添加血样的检出限为 0.3 ng/mL,样品储存在 -20 ℃下可稳定 3 个月。

1.3 快速分析

除了 UPLC 以外,新发展的一些微径柱也可大幅度地减少分析时间。如用 1.8 μm × 30 cm 的快速柱,在不影响分离的情况下可将分析时间由 20 min 缩短至 5 min,大大地提高了工作效率[21]。在线萃取或直接进样是快速分析的一个趋势。LC-MS/MS 技术对生物样品的提取、纯化和浓缩等前处理过程没有严格的要求,一般采用液-液萃取法或固相萃取法,甚至用直接进样的方法对目标化合物进行检测。在线萃取技术在省时和省力方面显示出相当大的优越性,现有在线固相萃取、柱切换、涂层毛细管微萃取(CCME,有时又称固相微萃取(SPME))、多元 LC 系统等。在线萃取技术使得 LC-MS/MS 优点更加明显,可以实现 LC-MS/MS 对微量、高通量样品的分析。

LC-MS/MS 的优势之一为可不经分离直接进样分析生物样品。使用 LC-MS/MS 可以通过 MS/MS 的选择离子对的模式有效地克服背景干扰,提高信噪比,对复杂样品仍可达到很高的灵敏度。Gustavsson 等[46] 评价了直接进样 LC-MS/MS 测定尿中鸦片剂(Opiats)的方法。用 LC-MS 可以不需对结合物进行酶解而直接检出吗啡、可待因、乙基吗啡、吗啡-3-葡萄糖醛酸甙、吗啡-6-葡萄糖醛酸甙形式等,结果与 GC-MS 方法吻合。与 GC-MS 相比,LC-MS 的样品前处理极为简单,既不需要酶解、提取和衍生化,又可使用自动程序,仅需 20 μL 的样品量。还有一个独特的好处是 LC-MS 可以同时测定上述所有化合物,而 GC-MS 需要两个独立的程序才能完成上述化合物的测定。在 LC-MS 方法中,进样后开始会发生离子抑制,但这并不影响对实际样品中化合物的确认和定性。另外,LC-MS 可检测羟吗啡酮(oxymorphone),GC-MS 则不能。

直接进样技术也有可能使一些极性强、出峰早、提取困难的化合物得到检测,但有些化合物如甘露醇、利他灵酸、氨氯吡咪等,其基质效应即离子抑制效应有时会比较明显,采用 APCI 技术可使分析结果受基质的影响相对小一些。

2 WADA 对 LC-MS 的判断标准

质谱技术的应用对兴奋剂的检测工作至关重要,数百种药物及其代谢物都是基于色谱分离结合质谱方法进行筛选和确证的。由于质谱方法在兴奋剂检测工作中的应用,WADA 已对禁用药物的测定标准有了明确的规定。通过目标分析物对照品与阳性尿中目标分析物的色谱保留时间和诊断离子的相对丰度进行对照来判断目标分析物非常重要。与 GC-MS 相比,LC-MS 和 LC-MS^n 等的标准相对可以放宽。在 WADA 的技术文件[47] 中,任何诊断离子的相对强度与加入尿样、参考样或参考物质所测得的同样离子的相对强度的差异均不得大于一定的值。例如:对于 LC-MS,相对丰度少于 5% 的诊断离子不能作为判据。当诊断离子的相对丰度大于 50% 时,气相色谱-电子轰击电离质谱(GC-EI/MS)的绝对差异应该为 ±10% 的范围,而 LC-MS,LC-MS^n,GC-MS^n 和气相色谱-化学电离质谱(GC-CI/MS)等可放宽到 ±15%。当诊断离子的相对丰度为 25% 至 50% 时,GC-EI/MS 的相对差异应该为 ±20% 的范围,而 LC-MS,LC-MS^n,GC-MS^n 和 GC-CI/MS 等可放宽到 ±25%。当诊断离子的相对丰度小于 25% 时,GC-EI/MS 的绝对差异应该为 ±5% 的范围,而 LC-MS,LC-MS^n,GC-MS^n 和 GC-CI/MS 等可放宽到 ±10%。

应用串联质谱方法时可采用全扫描或选择反应监测模式进行分析。在保留时间方面,与同时分析的加入尿样中的相同化合物、参考样品或参考物质保留时间的差异不能大于 1% 或 ±0.2 min,除非在保留时间漂移的情况下如样品超载,则保留时间的标准可以放宽;对于液相色谱,与同批次的加入尿样中的相同化合物、参考样品或同时分析的参考物质的保留时间的差异不能大于 2% 或 ±0.4 min;对于低分辨或高分辨质谱,无论是在全扫描还是选择离子模式下均需保证有 3 个以上的诊断离子(相对丰度 >5%),如果没有则需用第二种衍生化方法,或第二种离子化或碎裂方式,并应提供不同的诊断离子。

现在的兴奋剂检测标准都是为小分子化合物制定的。而对于肽类激素和蛋白识别就需要制定新的规则,这是因为一些新的因素和参数需要考虑[48-50]。首先,需要考虑的是观察小分子化合物采

用的是单电荷离子,而肽、蛋白质采用的是多电荷离子。对于大分子化合物,确证时样品与阳性尿去卷积得到的 M_r 相差应该在 0.5 Da 以内。其次,采用 MS/MS 技术时,最少应有 3 个具有结构特性的子离子,且 m/z 相差不大于 0.5 Da。在质谱检测中,当需要全扫描或部分扫描时,所有诊断离子的相对丰度最好大于 10%。

3　总结

显然,LC-MS 技术在兴奋剂检测及研究中具有相当可观的应用前景,但目前的普及性还不及 GC-MS。这里除了因 LC-MS 仪器成本导致其普及程度较低以外,还因为谱图解析技术仍不很成熟。迄今为止,GC-MS 采集 EI/MS 图谱的操作条件基本一致,且提供的裂解碎片信息比较丰富,依靠谱库检索可初步判断化合物的结构;但接口是电喷雾电离(ESI)和 APCI 等电离源的 LC-MS 是软电离模式,化合物在离子源里发生离子化及裂解的方式与 EI/MS 有着明显的差异,且 ESI 和 APCI 等电离源对不同类型的物质的电离条件各不相同,受液相色谱条件影响大,裂解信息少,往往需要测定多级裂解的谱图才能达到鉴别的目的。因此,早日建立 LC-MS 谱图库是该技术实现普及应用的根本途径。

作为 LC-MS 联机的接口技术,ESI 和 APCI 的发展已经历了一个从小流量到大流量、由直接导入到与液相色谱联机使用的完善过程。目前,化学工作站的设计也基本满足了实验室的需要,可进行自动分析程序(MACRO)的操作[21]。不过电喷雾质谱的分析条件仍然受到一些因素的限制,如 LC-MS 流动相中添加的缓冲盐和 pH 调节剂应该容易挥发,但在 HPLC 方法中常用的磷酸盐、硫酸盐或硼酸盐缓冲体系均不适合,应该选用挥发性的溶剂。大部分 LC-MS 中用于检测兴奋剂的色谱柱为反相 C18 柱和 C8 柱,缓冲体系一般为甲酸-乙腈、甲酸-甲醇、乙酸-乙腈、乙酸、甲酸铵-乙腈或乙酸铵-乙腈,而肽类激素和蛋白质的检测一般在酸解或胰蛋白酶降解后,使用乙酸、三氟乙酸-乙腈缓冲体系。

实现微径 HPLC 与质谱的联用是近年来检测大分子化合物的一个发展趋势,并有可能将毛细管电泳-质谱技术涵盖其中。ESI/MS 中新发展的极低流速下的电喷雾质谱,又称为纳升电喷雾质谱(nanoESI/MS),其电喷雾产生的液滴由于体积小,导致去溶剂化效率、离子化效率及离子转移至分析器的效率都比常规 ESI 源高,且喷雾稳定性好。nanoESI 源对溶剂、pH 值的选择范围较大、对盐有一定的耐受力,有利于蛋白质等大分子化合物的测定分析,灵敏度可高达 fmol 级。

四极杆离子阱质谱仪及串联质谱仪作为电喷雾离子化的质量分析器已发展得相当成熟,并已成为化合物结构分析和定性定量分析的强有力的手段。LC-MS 虽然有足够的灵敏度,但遇到 LC 难以分离的组分,其应用仍受到限制。使用 LC-MS/MS 可以相对有效地克服背景干扰,通过 MS/MS 的选择离子对模式来提高信噪比。另外,飞行时间质谱因其具有分辨率高、质量范围宽、扫描速度快和灵敏度高等优点也成为一个重要的发展方向,但该仪器的高成本仍造成普及困难。

参考文献:

[1] Kostiainen R, Kotiaho T, Kuuranne T, et al. J Mass Spectrom, 2003, 38(4): 357

[2] Xu Y X, Peng S Q. Acta Pharmaceutica Sinica (徐友宣, 彭师奇. 药学学报), 1997, 32(10): 792

[3] Qin Y. [PhD Dissertation]. Beijing: Peking University (秦旸. [博士学位论文]. 北京:北京大学), 2002

[4] Fang X M, Zhang S. Modern Instruments (方晓明, 张社. 现代仪器), 2002(3): 1

[5] Tiller P R, Romanyshyn L A, Neue U D. Anal Bioanal Chem, 2003, 377: 788

[6] Thevis M, Schanzer W. Mass Spectrom Rev, 2007, 26(1): 79

[7] Thevis M, Schanzer W. Anal Bioanal Chem, 2007, 388(7): 1 351

[8] Maurer H H. J Mass Spectrom, 2006, 41(11): 1 399

[9] Politi L, Groppi A, Polettini A. J Anal Toxicol, 2005, 29(1): 1

[10] Zhu S T. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society (朱绍棠. 质谱学报), 1991, 12(1): 1

[11] Qin Y, Wang X B, Wang C, et al. J Chromatogr B, 2003, 794: 193

[12] Deventer K, Delbeke F T, Roels K, et al. J Mass Spectrom, 2002, 37: 693

[13] Goebel C, Trout G J, Kazlauskas R, et al. Anal Chim Acta, 2004, 502: 65

[14] Thevis M, Schmickler H, Schanzer W. J Am Soc Mass Spectrom, 2003, 14: 658

[15] Kuuranne T, Kotiaho T, Pedersen-Bjergaard S, et al. J Mass Spectrom, 2003, 38(1): 16

[16] Strahm E, Saudan C, Sottas P E, et al. J Chromatogr B, 2007, 852(1/2): 491

[17] Catlin D H, Sekera M H, Ahrens B D, et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004, 18(12): 1 245

[18] Thevis M, Geyer H, Mareck U, et al. J Mass Spectrom, 2005, 40: 955

[19] Deventer K, Eenoo P V, Delbeke F T. Biomed Chromatogr, 2006, 20: 429

[20] Park S J, Kim Y J, Pyo H S, et al. J Anal Toxicol, 1990, 14: 102

[21] Qin Y, Zhang J L, Wang X B, et al. Chinese Journal of Sports Medicine (秦旸, 张建丽, 王小兵, 等. 中国运动医学杂志), 2007, 26(5): 620

[22] Deventer K, Delbeke F T. Rapid Commun Mass Spectrom,

2003, 17(18): 2 107
[23] Touber M E, van Engelen M C, Georgakopoulus C, et al. Anal Chim Acta, 2007, 586(1/2): 137
[24] Deventer K, Van Eenoo P, Delbeke F T. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20(5): 877
[25] Apollonio L G, Pianca D J, Whittall I R, et al. J Chromatogr B, 2006, 836(1/2): 111
[26] Thevis M, Kamber M, Schänzer W. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20(5): 870
[27] Mareck U, Geyer H, Guddat S, et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20(12): 1 954
[28] Deventer K, Van Eenoo P, Delbeke F T. J Chromatogr B, 2006, 834(1/2): 217
[29] Schanzer W, Geyer H, Fussholle G, et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20(15): 2 252
[30] Shpak A V, Appolonova S A, Semenov V A. J Chromatogr Sci, 2005, 43(1): 11
[31] Kolmonen M, Leinonen A, Pelander A, et al. Anal Chim Acta, 2007, 585(1): 94
[32] Thevis M, Schanzer W. Analyst, 2007, 132: 287
[33] Thevis M, Maurer J, Kohler M, et al. Int J Sports Med, 2007, 28(7): 545
[34] Gam L H, Tham S Y, Latiff A. J Chromatogr B, 2003, 792: 187
[35] Thevis M, Ogorzalek Loo R R, Loo J A, et al. Anal Chem, 2003, 75: 3 287
[36] Guan F, Uboh C, Soma L, et al. Anal Chem, 2004, 76(17): 5 118
[37] Gasthuys M, Alves S, Tabet J. Anal Chem, 2005, 77: 3 372
[38] Simitsek P D, Giannikopoulou P, Katsoulas H, et al. Anal Chim Acta, 2007, 583(2): 223
[39] Thevis M, Thomas A, Delahaut P, et al. Anal Chem, 2006, 78: 1 897
[40] de Kock S S, Rodgers J P, Swanepoel B C. Rapid Commun Mass Spectrom, 2001, 15(14): 1 191
[41] Thevis M, Geyer H, Schanzer W. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005, 19(7): 928
[42] Qin Y, Xu Y X, Zhu S T. Chinese Journal of Sports Medicine (秦旸, 徐友宣, 朱绍棠. 中国运动医学杂志), 2007, 26(4): 482
[43] Guan F Y, Uboh C E, Soma LR, et al. Anal Chem, 2007, 79(12): 4 627
[44] Stubiger G, Marchetti M, Nagano M, et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005, 19(5): 728
[45] Thevis M, Bredehoft M, Geyer H, et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20(23): 3 551
[46] Gustavsson E, Andersson M, Stephanson N, et al. J Mass Spectrom, 2007, 42: 881
[47] World Anti-Doping Agency. International standard. (2007-12-25). http://www.wada-ama.org/en
[48] Rivier L. Anal Chim Acta, 2003, 492: 69
[49] de Zeeuw R A. J Chromatogr B, 2004, 811: 3
[50] Thevis M, Loo J A, Ogorzalek Loo R R, et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21(3): 297

书 讯

高效液相色谱实用手册

张庆合 主编，书号 978-7-122-01645-4，16 开精装，定价 58 元，2008 年 2 月出版

本书由数位色谱分析界的专家共同编纂，是液相色谱工作者的案头工具书。

本书由两篇构成，第一篇是液相色谱分析的基础与最新进展，包括液相色谱基本知识与名词术语、流动相、色谱柱、仪器、定性与定量分析、样品前处理与液相色谱方法建立等内容。第二篇收集了 300 余张生物大分子、天然产物、食品添加剂、生化医药及中草药等领域典型的实际应用谱图与详尽的分析方法。

本书取材突出实用性，注重基础知识、基础数据与色谱技术的最新进展，提供了系统了解高效液相色谱基础知识、查阅常用资料数据、参阅相关样品的分离检测方法、排除常见故障等方面的综合信息。内容丰富、资料翔实。可供各行业从事色谱分析工作的人员查阅参考。

化学工业出版社化工材料分社

电话：010-64519432　　网址：www.cip.com.cn

地址：北京市东城区青年湖南街 13 号　　邮编：100011