

液相色谱-质谱联用技术及其在医院药学中的应用

张 镞 张相林

作者单位:100029 北京市,卫生部中日友好医院药学部

通讯作者:张相林, E-mail:xianglin63@yahoo.com

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2012.02.014

液相色谱-质谱联用 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 技术是当代最强有力的分离和鉴定分析系统之一。近年来, LC-MS 技术在医院药学领域得到了广泛应用, 本文就 LC-MS 技术的特点及其在医院药学工作中的应用作一简要综述。

1 LC-MS 技术简介

LC-MS 是以发展成熟的液相色谱 (liquid chromatography, LC) 技术为分离手段、采用质谱 (mass spectrometry, MS) 为检测器的一种综合性在线分析技术。它集 LC 的高分离能力与 MS 的高灵敏度、极强的专属性与特异性于一体, 具有传统 MS 分析技术不可比拟的优越性。与传统的 LC 检测器如紫外、荧光等检测器不同, MS 是一种通用型检测器。它检测的是离子质量而非基于化合物特定基团或结构的信号。通过多种电离方式, MS 可使各种样品分子得到有效的电离, 经质量分析器分离后均可被检测, 具有广泛适用性。同时, 获得的化合物质谱图也解决了 LC 定性的局限性。通过 MS 的多种扫描方式和质量分析技术, 可实现对目标化合物特征离子的选择性检测, 极大的提高了分析的专属性, 并且排除了基质和杂质的干扰, 大大提高了检测灵敏度^[1]。

LC-MS 技术的关键在于如何将经 LC 分离出的液体组分引入高真空的 MS。这一关键技术被称为“接口”, 接口同时又是 MS 仪的电离装置。大气压离子化 (atmospheric pressure ionization, API) 接口的应用, 彻底改变了 LC-MS 的面貌^[2,3], 使得 LC-MS 技术在分离分析领域得到了前所未有的发展和应用。API 是在大气压条件下的质谱离子化技术的总称, 包括电喷雾离子化 (electrospray ionization, ESI), 大气压化学离子化 (atmospheric chemical ionization, APCI) 和大气压光离子化 (atmospheric pressure photoionization, APPI) 等技术。目前应用最广泛的 API 技术是 ESI 和 APCI。

ESI 是一种很温和的离子化技术, 多用于中等极性到强极性、非挥发性、热不稳定的化合物, 特别是那些在溶液中能预先形成离子的化合物和可以获得多个质子的大分子物质 (如蛋白质)^[4]。只要有相对较强的极性, ESI 对小分子的分析常常可以得到满意的结果, 已在 LC-MS 仪中得到广泛应用。

借助气动辅助和超声等雾化技术, ESI 已可在 2 ml/min 的高流速下工作。通过形成多电荷离子, 相对分子质量分析上限已达到 150×10^3 , 可对经 LC 分离的生物大分子进行直接进样分析^[5]。与其他离子源不同, ESI 的表现行为如浓度型检测器, 因此可以不受样品量的限制, 可采用柱后分流技术, 同时收集经色谱纯化的样品, 同时使用与 MS 仪平行的另一检测器, 或以较低流速通过离子源以增加离子化效率。近年来, ESI 在低流速范围内得到了发展, 出现了一种称之为纳升电喷雾的装置。通过这种喷雾装置, 可在 25 nl/min 的低流速下稳定喷雾, 从而使毛细管 LC 法得以与 ESI-MS 连接起来, 尤其适合微量样品的高灵敏度分析^[6]。

在 APCI 离子源中, 样品溶液借助于雾化气的作用, 喷入高温蒸发器, 使得溶剂和溶质均成为气体, 通过电晕放电来电离气相中的分析物。因此 APCI 适合分析具有一定挥发性的中、低极性小分子化合物, 如醇和醚等。此外, APCI 通常易与正相色谱连接。非极性溶剂易于蒸发, 生成的试剂离子是强气相酸, 易于将质子转移至样品分子。

APPI 是在大气压下利用光化作用将气相分析物离子化的技术, 其适用范围与 APCI 相似, 是对 APCI 的补充。基质辅助激光解吸离子化 (matrix assisted laser desorption ionization, MALDI) 是近年来发展较快的一种离子化技术。MALDI 是将样品加入到一种能够强烈吸收激光的基质中, 通过能量转移产生样品的分子离子或准分子离子。MALDI 常与飞行时间质谱联用测定高质量数分子, 其灵敏度高, 样品制备简单, 现已被广泛应用于蛋白质、肽类、核苷酸、多糖以及合成聚合物等的检测。由于其自身特点 MALDI 与 LC 的联用多为非在线方式进行, 将 LC 分离的大分子物质点样于 MALDI 靶上, 从而通过 MALDI-串联质谱 (MS/MS) 进行自动鉴定^[7]。Boyan 等^[8]于 2004 年发表的文章中, 介绍了一种 MALDI-MS 与 LC 在线连接的新型接口技术—热液滴接口, 并且应用这种接口分析了大肠埃希菌 K12 中的水溶性蛋白成分。这种接口的出现可能改变 MALDI 与 LC-MS 无法在线联用的状况。

目前常用的质谱仪包括四级杆、离子阱、飞行时间和傅里叶变换 MS 等。ESI、APCI 与 APPI 三种离子源大多与四级

杆、离子阱和飞行时间质谱联用,是目前 LC-MS 仪中应用最广泛的几种 MS 技术⁹。

2 LC-MS 技术在医院药学中的应用

2.1 药代动力学研究 LC-MS 技术是分析和鉴定复杂混合物的强力工具,尤其适用于体内药物的痕量测定分析。在过去的 10 年中,LC-MS 有力地推动了药代动力学的研究发展。尤其是随着 MS/MS 的应用,通过多种扫描方式如选择离子监测(selected or single ion recording, SIR)技术和多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)技术可以大大的提高分析的专属性,提高灵敏度,改善信噪比,从而对各种复杂生物样品中的药物及其代谢物浓度精确定量。Wiesen 等¹⁰采用 LC-MS/MS 法对人血浆及唾液中的霉酚酸及其葡萄糖醛酸结合物的浓度进行了测定,结果表明,唾液样本中的霉酚酸及其葡萄糖醛酸结合物浓度线性范围为 5~400 ng/mL; 血浆样本中霉酚酸及其葡萄糖醛酸结合物浓度线性范围分别为 0.08~20 µg/mL 和 0.4~100 µg/mL。

经过体内的生物转化,多数药物的代谢产物保留了母体药物的骨架结构或亚结构,通过碰撞诱导解离可以将化合物的分子离子或准分子离子打碎,代谢产物与母体药物可能具有相似的特异性裂解规律,丢失某些相同的中性碎片或形成相似的特征离子,通过母离子扫描、子离子扫描和中性丢失扫描,结合比较结构信息,即可找到可能的代谢产物并鉴定出代谢产物的结构¹¹。于治国等¹²用 LC-MS 鉴别出 6,7-二甲氧基香豆素大鼠体内的主要代谢产物,结果是大鼠给药后 0-10 h 内,血样中有药物原型,胆汁中有两个主要代谢产物(M1 和 M2),血中、尿中以 M 为主。M1 和 M2 的含量占代谢物总量的 80%以上。根据 MS 断裂规律、推定 M1、M2 为药物经水解脱甲基生成的羟基化合物,以硫酸酯结合物形式存在,互为同分异构体。

自 LC-MS 技术诞生以来,在药物及其代谢产物研究领域得到了广泛应用,极大推动了药物研究的进程,并以其独特的分离鉴定优势,成为了药物代谢研究的有力工具。

2.2 中毒药物筛查 每年由于误服、滥用或患者遗传因素差异导致成千上万的患者因药物中毒而无法确定中毒药物,给重症患者的抢救带来极大困难。仅靠维持患者生命体征往往使患者贻误最佳治疗时机,而错误推测中毒药物又极可能适得其反。因此,快速、灵敏、专属性强的中毒药物检测方法是临床急救急需解决的问题。而体内毒物分析又具有灵敏度要求高、干扰多、样本少、时间紧迫的特点,常规分析手段已无法满足需求。LC-MS/MS 技术集高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)的高分离性能与质谱的高灵敏度、高专属性优点于一体,因为其多数药物结构的通用性、检测的专属性和灵敏度等各方面的优势,已迅速成为临床毒理学研究中采用的主要分析方法。丁春雷等¹³采

用 LC-MS/MS 技术开展中毒药物筛查工作,并运用该方法为 43 例患者成功进行了快速毒物检测分析,为临床抢救赢得了宝贵的时间。

Smink 等¹⁴采用 LC-MS/MS 同时测定了全血中 33 种苯二氮卓类化合物及其代谢物。样品采用液液萃取,选用 APCI 电离源,33 种化合物的最低检测限为 0.1~12.6 ng/mL, 萃取回收率为 60%~90%。Naidong 等¹⁵采用 LC-MS/MS 技术同时检测了血液中吗啡、吗啡-3-葡萄糖醛酸结合物、吗啡-6-葡萄糖醛酸结合物。样品采用固相萃取技术处理,ESI 电离源,绝对回收率 70%~93%,最低定量限达 0.5~10 ng/mL。上述研究中均采用串联四极杆 MS 仪,定量准确、灵敏度高,检测迅速。

然而在临床实践中发现,中毒药物筛查更需要在广度上做文章,而非一味要求定量的高精度,可筛查药物覆盖面窄将不利于该方法在临床的应用,很可能出现无法筛查出正确中毒源的结果。MS 技术的发展也再次推动了中毒药物检测手段的进步,新型的混合型串联质谱仪-四极杆-线性离子阱串联质谱仪的出现成功解决了这一问题,该型仪器是将三重四极杆的最后一级四极杆改为线性离子阱设计而成。其特点在于兼具传统四极杆和离子阱的功能,离子阱模式下灵敏度更高,能获得更丰富的 MS/MS 数据,信息量更大。Mueller 等¹⁶采用 QTRAP 型的 LC-MS/MS,运用 IDA 扫描模式,直接将二级扫描图跟谱库进行对比分析,以化合物的二级碎片特征峰为指标筛选药物,可同时筛查定性 301 种化合物。

2.3 治疗药物监测 (therapeutic drug monitoring, TDM) TDM 是通过测定血液或其他体液中的药物浓度,并结合临床疗效,通过药动学、药理学原理调整给药方案,以达到最大治疗效果和最小毒副作用,其核心是药物治疗个体化。目前临床实施 TDM 的药物主要有地高辛、茶碱、甲氨喋呤、环孢霉素、他克莫司、西罗莫司等,其特征是毒性强,治疗窗狭窄,因此,在患者中实施个体化治疗显得尤为重要。目前,TDM 主要采用免疫化学技术,如荧光偏振免疫分析法和微粒子酶免分析法。这类方法分析快速、灵敏度较高,适于批量样品测定。但这类免疫方法基于抗原抗体结合反应,可能因为这些药物的代谢产物或结构类似物的非选择性交叉反应使得这些药物的血药浓度被高估。与免疫技术不同,质谱检测技术是基于不同的质荷比,测定不同带电粒子的丰度而非化合物特定基团或结构的信号。而 MS/MS 技术则利用多重(两重或更多)质谱串联并通过碰撞池提供不同特点的分子碎片,极大地提高了选择性。采用 LC-MS/MS 技术监测治疗药物浓度,不但可以高选择性监测药物浓度,还可以同时监测药物在体内的各种代谢产物浓度。

2.3.1 免疫抑制剂 在最近的几十年里,移植患者的寿命得到显著的提高,这主要归功于免疫抑制剂治疗方案的个体化

调整。免疫抑制剂有毒性强和治疗窗窄的特点。例如,环孢素有多种副作用包括免疫系统、肾脏、肝脏和神经系统的损害,在相当多的一部分患者中要不断的调整药量或者停药。而且,不同个体不同种族血药浓度水平变化很大,不同的联合用药也影响血药浓度。因此,移植后患者的成功治疗主要依赖于免疫抑制治疗方案的优化,而治疗方案的优化依赖于常规的治疗药物监测^[17]。

Simpson 等^[18]将样品沉淀蛋白经 C8 色谱柱分离,以 ESI 离子源电离后,采用 MS/MS 检测,实现了全血中 CsA 原型药物及其 9 种代谢产物的同时定量分析。Dubbelboer 等^[19]建立了采用 LC-MS/MS 技术同时测定他克莫司及其三种去甲基化代谢物的方法,并将该方法应用于 53 份临床样本的测定。

由于 HPLC-MS/MS 的高灵敏度和高选择性,已经被用作一种标准来评估免疫分析的准确性。Morris 等^[20]比较了用微粒子免疫分析法(microparticle enzyme immunoassay, MEIA)分析和用已经建立的 HPLC-MS/MS 法分析不同类型器官移植的 116 例患者全血(EDTA 抗凝)中西罗莫司的浓度,结果发现,与 HPLC-MS/MS 分析相比,MEIA 分析的平均偏倚是(49.2±23.1)% (范围-2.4%~128%),表明 MEIA 分析方法可能仍然存在羟基化和甲基化代谢产物交叉反应的干扰。

Borrows 等^[21]在 80 位肾移植术后服用他克莫司的患者中开展了 MEIA 法和 HPLC-MS 法的比较研究。在该研究中,患者被分成两组,40 人采用 MEIA 法测定全血谷浓度,浓度控制在 10~15 μg/L;另外一组采用 HPLC-MS 法测定全血谷浓度,浓度控制在 8~13 μg/L。通过 6 个月的随访发现,两组在预后的各个方面差异均无统计学意义(患者存活率、移植器官存活率、剂量调整、移植器官功能、急性排斥反应、肾毒性、血压、总胆固醇和感染)。结果证明,即使采用选择性低于 LC-MS/MS 法的 LC-MS 法监测患者移植术后他克莫司血药浓度也是安全、有效的。

目前,器官移植患者的免疫抑制治疗方案多为联合用药,但是合并使用的药物在治疗药物监测时是否会对测定结果产生相互干扰呢?有研究^[22]表明西罗莫司存在对用荧光偏振免疫法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)测定环孢素浓度有显著的影响。该项研究以 LC-MS 法作为参照方法,与 FPIA 法结果进行比较,分析了采集自 121 位肾移植患者的 726 份全血,这些患者服用全剂量的环孢素或西罗莫司加低剂量环孢素。结果表明,对于不同采样时间点的样本,FPIA 法不同程度的高估了环孢素的浓度,而且西罗莫司的存在对通过该法测得的 12 h 曲线下面积都有影响。而由于测定原理的差异,HPLC-MS/MS 法能够很好的排除同类药物的干扰,并可以同时生物样本中的多种药物浓度进行测定。Ceglarek 等^[23]运用 LC-MS/MS 法同时测定 147 个肾移植、67 个肝移植和 15 个肾脏胰脏联合移植和 48 个骨髓移植患者

共 1483 个血液样本,对这些样本中的环孢素、他克莫司和西罗莫司进行了定量分析,精密度为 2.4%~9.3%,准确率超过 95%。

2.3.2 抗真菌药物 随着广谱抗生素、糖皮质激素、免疫抑制剂的广泛应用,真菌感染的发病率日趋增高,同时由于临床抗真菌药的大量使用,菌群耐药现象严重。如何合理使用抗真菌药物,已成为临床亟待解决的问题。有研究^[24]表明,部分抗真菌药物的血药浓度与治疗疗效和毒性有密切联系。因此,在抗真菌治疗中开展 TDM 工作将有利于降低药物毒性,提高治疗有效率并延缓耐药现象的发生。

三唑类抗真菌药物(氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑和泊沙康唑等)作用于细胞膜,是固醇 14- α -去甲基酶抑制剂。此类药物具有广谱抗菌活性,副作用相对较少,包括口服及注射两种剂型,目前广泛应用于预防和治疗侵袭性真菌感染。此类药物血药浓度的个体差异很大,其药动学特征使其在临床应用时需要进行 TDM。

快捷的血药浓度测定方法是开展 TDM 的先决条件,LC-MS 技术的发展,使同时测定不同种类的抗真菌药物成为了可能。Decosterd 等^[25]建立采用超高效 LC-MS 技术测定人血浆中氟康唑、伊曲康唑、羟基-伊曲康唑、伏立康唑、泊沙康唑、卡泊芬净、阿尼芬净的方法。该方法样本用量少、前处理简便,检测迅速,仅需 100 μl 血浆样本,以乙腈沉淀蛋白,上样后即可在 7 min 内完成 7 种药物的检测。该方法可应用于测定血浆样本、单核细胞、中性粒细胞及红细胞中的上述药物浓度。

TDM 在三唑类抗真菌药物应用于临床中起到了不可或缺的作用。但目前部分三唑类疗效和毒性与药物浓度的相关性研究资料尚有欠缺,尤其是不同研究中确定的目标浓度也并不统一,尚需不断深入研究,但 HPLC-MS/MS 技术为这些研究的开展提供了可靠的技术手段^[26]。

2.3.3 抗肿瘤药物 虽然大多数抗肿瘤药物具有治疗指数低、毒性大及体内过程个体差异大的特点,理论上应该进行 TDM,但由于其量效关系的复杂性,目前在临床广泛开展 TDM 的抗肿瘤药物并不多。Büchel 等^[27]采用 LC-MS/MS 技术同时测定结肠癌患者血浆中的尿嘧啶、二氢尿嘧啶、5-氟尿嘧啶及 5-氟二氢尿嘧啶-2,4-二酮的浓度,结合测定结果可在治疗前评估患者二氢尿嘧啶脱氢酶的活性,指导临床给药。该方法巧妙地将 5-氟尿嘧啶的浓度测定与二氢尿嘧啶脱氢酶的活性评估合二为一,有利于指导 5-氟尿嘧啶的个体化给药,并可降低药物毒性。

自 2001 年第一代酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼上市以来,该类药物的体内代谢个体差异大,国外已有对该类药物进行 TDM 的方法学研究报道。Couchman 等^[28]采用 96 孔固相萃取

装置处理样本, UPLC-MS/MS 技术配合同位素内标测定了伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼等 9 种酪氨酸激酶抑制剂。该方法前处理简便, 一次可处理近百份样本, 分析速度快, 适合常规 TDM 工作。

2.4 生物标志物 Biomarkers 等^[29]对生物标志物的特征做出了如下描述: 作为指示剂, 生物标志物可以被测定, 并且通过对其的测定可以解释正常生理过程、病理过程及治疗药物的药理学效应。通过对生物标志物的定量测定, 可以更可靠、更早期的预测疾病, 增加治疗药物对特定目标人群的选择性, 甚至预测治疗的疗效。

生物标志物的研究通常分为发现、确证及临床应用三个阶段。发现阶段的研究是以全面分析生物样本、尽可能多的发现潜在的生物标志物为目的, 通常需先采用二维凝胶电泳分离, 再经高分辨质谱技术, 如四极杆-飞行时间串联质谱技术、傅立叶转换回旋共振质谱技术等分析蛋白质^[30,31]。同位素标记相对和绝对定量技术的出现大大简化了这一过程, 基于高度灵敏性和准确性的 LC-MS/MS 技术, 不需要凝胶, 就可以获得蛋白质相对和绝对的定量结果, 已在发现潜在生物标志物的研究中扮演越来越重要的角色^[32]。在生物标志物的确证与临床应用阶段则需要对潜在的生物标志物进行准确的定量测定。在传统研究模式中, 确证与临床应用阶段通常会采用酶联免疫分析(ELISA)等配体分析技术。随着质谱联用技术的发展, 三重四极杆、四极杆-线性离子阱等串联质谱技术正不断挑战 ELISA 等配体分析技术在生物标志物确证及临床应用中的地位, 生物标志物的分析方法正逐步向质谱技术平台整合, 整合后的研究平台不仅可以完成生物标志物的研究全过程, 还可以满足临床为提高诊断准确性, 同时测定多个生物标志物的需求。

3 LC-MS 技术的局限性及应用展望

像其他技术一样, LC-MS 也有其局限性。LC-MS 需要初始的大量投资和经过严格训练的分析人员操作和维护系统。这使得只有一部分临床实验室购买和使用 LC-MS。MS/MS 最常用的 ESI 的弱点就是离子抑制, 这可能会显著丧失灵敏度甚至产生错误的结果。离子抑制是指共洗脱的化合物抑制了靶化合物在离子源的离子化。离子抑制的机制目前不清楚, 但是复杂的基质(如全血和血清)会放大这个问题。消除离子抑制的一个有效方法是通过样品提纯步骤除去外来的基质成份。但是, 这就需要额外的时间和努力。此外, 基于检测的原理, LC-MS/MS 也不能完全排除同分异构体和同质异序分子的干扰。

近年来, 作为一种理想的快速分析手段, LC-MS 技术得到了很大进展。LC-MS 技术已逐步发展成为了一种常规应用的技术。由于 LC-MS 对混合物的分析具有很高的灵敏度和选择性以及广泛的适用性, 并可对目标化合物进行定性分

析, 特别适合临床生物样本定性、定量分析工作。目前, LC-MS 技术已在医院药学领域得到了广泛应用, 本文仅对于其中的一些应用进行了综述。可以预见, 随着 LC-MS 仪器的普及, 其应用会有更飞速的发展, 必将对我国医院药学工作起到很大的推动作用。

4 参考文献

- 1 盛龙生, 苏焕华, 郭丹滨. 色谱质谱联用技术(第 1 版). 北京: 化学工业出版社, 2006.
- 2 Damon BR, Thomas RC, Andries PB. Atmospheric pressure photoionization: An ionization method for liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal Chem*, 2000, 72:3653-3659.
- 3 钟大放. 液相色谱-质谱联用法在药物研究中的应用. *世界科学技术-中医药现代化*, 2003, 5:44-47.
- 4 项斌, 李立军, 再帕尔·阿不力孜. 液相色谱-质谱联用方法在药用植物成分分析中的作用. *药学报*, 2002, 3:389-395.
- 5 王璐璐, 倪坤仪, 戴亮. 液相色谱-质谱联用技术在药物分析中的应用. *中南药学*, 2006, 4:138-141.
- 6 Wilm MS, Mann M. Analytical properties of the nanoelectrospray ion-source. *Anal Chem*, 1996, 68:1-8.
- 7 Perkins DN, Pappin DJ, Creasy DM, et al. Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data. *Electrophoresis*, 1999, 20:3551-3567.
- 8 Zhang B, McDonald C, Li L. Combining Liquid Chromatography with MALDI Mass spectrometry Using a Heated Droplet Interface. *Anal Chem*, 2004, 76:992-1001.
- 9 刘祥东, 梁琼麟, 罗国安, 等. 液质联用技术在医药领域中的应用. *药物分析杂志*, 2005, 25:110-116.
- 10 Wiesen MH, Farowski F, Feldkötter M, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantification of mycophenolic acid and its phenolic glucuronide in saliva and plasma using a standardized saliva collection device. *J Chromatogr A*, 2012, 1241: 52-59.
- 11 Lee MS, Yost RA. Rapid identification of drug metabolites with tandem mass spectrometry. *Biomed Environ Mass Spectrom*, 1988, 15:193-204.
- 12 于治国, 毕开顺, 王倩. 6,7-二甲氧基香豆素在大鼠体内主要代谢产物的研究. *世界科学技术-中药现代化*, 2003, 5:2-3.
- 13 丁春雷, 刘丽宏, 马萍, 等. LC-MS/MS 在中毒检测中的应用及病例分析. *中国药师*, 2009, 12:746-748.
- 14 Smink BE, Brandsma JE, Dijkhuizen A, et al. Quantitative analysis of 33 benzodiazepines, metabolites and benzodiazepine-like substance in whole blood by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 2004, 811:13-20.
- 15 Naidong W, Lee JW, Jiang X, et al. Simultaneous

(下接第 99 页)

- Methods, 2012, 89: 133-136.
- 10 Alvarez-Buylla A, Culebras E, Picazo JJ. Identification of *Acinetobacter* species; is Bruker biotyper MALDI-TOF mass spectrometry a good alternative to molecular techniques. *Infect Genet Evol*, 2012, 12: 345-349.
- 11 He Y, Li H, Lu X, et al. Mass spectrometry biotyper system identifies enteric bacterial pathogens directly from colonies Grown on selective stool culture media. *J Clin Microbiol*, 2010, 48: 3888-3892.
- 12 鲍春梅, 崔恩博, 陈鹏, 等. MALDI-TOF-MS 鉴定宋内志贺菌的初步应用研究. *传染病信息*, 2012, 25: 10-13.
- (收稿日期: 2012-04-04)
(本文编辑: 李霖)
-
- (上接第 122 页)
- assay of morphine, morphine-3-glucuronide and morphine-6-glucuronide in human plasma using normal-phase liquid Chromatography tandem mass spectrometry with a silica column and an aqueous organic mobile phase. *J Chromatogr B*, 1999, 735: 255-269.
- 16 Mueller CA, Weinmann W, Dresen S, et al. Development of a multi-target screening analysis for 301 drugs using a QTrap liquid chromatography/tandem mass spectrometry system and automated library searching. *Rapid comm. Mass Spectrom*, 2005, 19: 1332-1339.
- 17 Yang Z, Wang S. Recent development in application of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in therapeutic drug monitoring of immunosuppressants. *J Immunol Methods*, 2008, 336: 98-103.
- 18 Simpson J, Zhang QL, Ozaeta P, et al. A specific method for the measurement of cyclosporin A in human whole blood by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Ther Drug Monit*, 1998, 20: 294-300.
- 19 Dubbelboer IR, Pohanka A, Said R, et al. Quantification of tacrolimus and three demethylated metabolites in human whole blood using LC-ESI-MS/MS. *Ther Drug Monit*, 2012, 34: 134-142.
- 20 Morris RG, Salm P, Taylor PJ, et al. Comparison of the reintroduced MEIA assay with HPLC-MS/MS for the determination of whole-blood sirolimus from transplant recipients. *Ther Drug Monit*, 2006, 28: 164-168.
- 21 Borrows R, Chusney G, Loucaidou M, et al. Tacrolimus monitoring in renal transplantation: a comparison between high-performance liquid chromatography and immunoassay. *Transplant P*, 2005, 37: 1733-1735.
- 22 Napoli KL. 12-hour area under the curve cyclosporine concentrations determined by a validated liquid chromatography-mass spectrometry procedure compared with fluorescence polarization immunoassay reveals sirolimus effect on cyclosporine pharmacokinetics. *Ther Drug Monit*, 2006, 28: 726-736.
- 23 Ceglarek U, Lembcke J, Fiedler GM. Rapid simultaneous quantification of immunosuppressants in transplant patients by turbulent flow chromatography combined with tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta*, 2004, 346: 181-190.
- 24 Andes D, Pascual A, Marchetti O. Antifungal therapeutic drug monitoring: established and emerging indications. *Antimicrob Agents Chem other*, 2009, 53: 24-34.
- 25 Decosterd LA, Rochat B, Pesse B, et al. Multiplex ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification in human plasma of fluconazole, itraconazole, hydroxyitraconazole, posaconazole, voriconazole, voriconazole-N-oxide, anidulafungin, and caspofungin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54: 5303-5315.
- 26 王璨珏, 段京莉. 抗真菌药物进行治疗药物监测的研究进展. *中国新药杂志*, 2011, 20: 224-229.
- 27 Büchel B, Rhyn P, Schürch S, et al. LC-MS/MS method for simultaneous analysis of uracil, 5,6-dihydrouracil, 5-fluorouracil and 5-fluoro-5,6-dihydrouracil in human plasma for therapeutic drug monitoring and toxicity prediction in cancer patients. *Biomed Chromatogr*, 2012 Mar 27. doi: 10.1002/bmc.2741.
- 28 Couchman L, Birch M, Ireland R, et al. An automated method for the measurement of a range of tyrosine kinase inhibitors in human plasma or serum using turbulent flow liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 403: 1685-1695.
- 29 Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definition and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*, 2001, 69: 89-95.
- 30 Lee HH, Lim CA, Cheong YT, et al. Comparison of protein expression profiles of different stages of lymph nodes metastasis in breast cancer. *Int J Biol Sci*, 2012, 8: 353-362.
- 31 Xiao H, Wong DT. Proteomic analysis of microvesicles in human saliva by gel electrophoresis with liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta*, 2012, 723: 61-67.
- 32 Shetty V, Jain P, Nickens Z, et al. Investigation of plasma biomarkers in HIV-1/HCV mono- and coinfecting individuals by multiplex iTRAQ quantitative proteomics. *OMICS*, 2011, 15: 705-717.
- (收稿日期: 2012-03-04)
(本文编辑: 李霖)