doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.12.006

# LC-MS/MS 法检测人头发中利培酮及其代谢物 9- 羟利培酮含量的实验研究 *

孙秀佳 林治光 任娟娟 蒋 平 刘红梅 李春波 李华芳△

(上海交通大学医学院附属精神卫生中心 生化药理研究室 上海 200030)

**摘要 目的：**建立高效液相色谱 - 三重四级杆质谱联用 (LC-MS/MS) 法检测人头发中利培酮 (RIP) 及其代谢物 9- 羟利培酮 (9-OH-RIP)含量的方法。**方法：**采用同位素内标氘 4- 利培酮(RIP-d4)及氘 4-9- 羟利培酮(9-OH-RIP-d4),流动相 A 为 10 mmol/L 醋酸胺溶液(甲酸调 pH 值为 4.0),流动相 B 为乙腈,A/B=70/30,流速为 0.3 mL/min,等度洗脱 4.00 min。色谱柱为安捷伦 Zorbax SB C18(2.1× 50 mm,1.8 μm),柱温 30℃。准确称取 20 mg 丙酮清洗过晾干剪碎成粉末的头发样本,加 1N 氢氧化钠(NaOH)超声 2 h,等量酸中和后,加 200 μL1N 氢氧化钠溶液及 5.0 mL 的甲基叔丁基醚(MTBE)提取涡旋 1 分钟,3000× g 离心 5 min 后取上清液在 40 度水浴下氮气吹干后用 100 μL 流动相复溶，进样 2 μL 经 LC-MS/MS 检测。MRM 监测离子对：RIP ：m/z 411.2→191.0,9-OH-RIP：m/z 427.2→207.1,RIP-$d^4$：m/z 415.2→195.2,9-OH-RIP-$d^4$：m/z 431.2→211.1。**结果：**利培酮及 9- 羟利培酮线性范围分别为 0.5-25 ng/mg,0.0025-0.15 ng/mg,提取回收率均 >70.0%,方法回收率均在 85.0%-115.0%之间,线性 r 均 >0.999,精密度和重现性 RSD 均 <15%。**结论：**本研究建立了采用 LC-MS/MS 法检测人头发中利培酮及 9- 羟利培酮含量的方法,该法快速、简单、准确、重现性好。

**关键词：**利培酮；9- 羟利培酮；LC-MS/MS；药物浓度；头发

**中图分类号：**R969.1；R917 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2015)12-2221-04

# Determination of Risperidone and Its Metabolite of 9-hydroxyrisperidone in Hair by LC-MS/MS*

*SUN Xiu-jia, LIN Zhi-guang, REN Juan-juan, JIANG Ping, LIU Hong-mei, LI Chun-bo, LI Hua-fang△*

*(Department of Biochemistry and Psychopharmacology, Shanghai Mental Health Center, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200030, China)*

**ABSTRACT Objective:** To establish an HPLC-MS/MS method for the determination of risperidone (RIP) and its metabolite 9-hydroxy-risperidone (9-OH-RIP) in the hair. **Methods:** The isptope-labeled internal standards (risperidone-d4 and 9-hydroxyrisperidone-$d^4$) were used. The mobile phase A 10 mm ammonium buffer (tune pH to 4.0 by formic acid); B: Acetonitrile; A/B=70/30, flow rate of 0.3 mL/min, the analytical column was Agilent Zorbax SB C18 (2.1× 50 mm, 1.8 μm), temperature was 30℃. 20 mg sample of hair was weighed accurately, which was washed by acetone and cuted into powder, ultrasonic for 2 h with added 1 mL of 1N NaOH, then neutralized by 1 mL 1N HCL, added 200 μL 1N NaOH and 5.0 mLof Methyl Tertiary Butyl Ether vortex for 1 min, 3000 g centrifugation for 5 min, supernate was dried under 40℃ with nitrogen, and redissolved by 100 μL mobilephase, inject 2 μL into LC-MS/MS. MRM: RIP: m/z 411.2→191.0, 9-OH-RIP: m/z 427.2→207.1, RIP-$d^4$：m/z 415.2→195.2, 9-OH-RIP-$d^4$: m/z431.2→211.1. **Results:** The results showed that the linear was 0.5-25 ng/mg for RIP and 0.0025-0.15 ng/mg for 9-OH RIP, both of the linearly dependent coefficient (r) were no less than 0.999, the recoverys of extraction >70.0 %, the recoverys of method was between 85.0 % and 115.0 %, and the RSDs of precision and accuracy were all no more than 15 %. **Conclusion:** A determination method of the concentration of RIP and 9-OH-RIP in hair was established, which was simple and rapid, and had superior sensitivity and selectivity.

**Key words:** Risperidone; 9-hydroxy-risperidone; LC-MS/MS; Drug concentration; Hair

**Chinese Library Classification(CLC): R969.1; R917 Document code: A**

**Article ID: 1673-6273(2015)12-2221-04**

## 前言

利培酮(Risperidone,RIP)又名维思通,化学名为 3-[2-[4-(6-氟 -1,2)- 苯并异噁唑 -3- 基 -1- 哌啶]乙基]6,7,8,9- 四氢 - 已 - 甲基 -4H- 吡啶并[1,2-α]嘧啶 -4- 酮[1],为第二代抗精神病药,不局限于对 D2 受体的阻断[2],不仅对精神分裂症常以幻觉、妄想为

* 基金项目：国家 " 重大新药创制 " 科技重大专项(2012ZX09303-003)；上海市卫生系统优秀人才(XBR2011049)；上海市卫生系统优秀学科带头人培养计划(XBR2011005),上海市精神卫生中心院级课题(2012-YJ-09)

作者简介：孙秀佳(1982-),女,硕士,助理研究员,研究方向：临床生化药理研究,E-mail：sxj013@163.com

△通讯作者：李华芳,主任医师,教授,博导,主要从事精神疾病临床及药理学研究,E-mail：lhlh_5@163.com

(收稿日期：2014-10-22 接受日期：2014-11-16)

主的阳性症状有很好的疗效[3],对阴性症状也有疗效[4],但其引起的运动功能抑制等不良反应比经典的抗精神病药少,因而在临床上得到广泛的应用[5,6]。在体内,利培酮部分代谢成 9- 羟利培酮(9-hydroxy-risperidone,9-OH-RIP),后者是前者的主要活性代谢产物[7],其药理活性是母药的 70 %[8],因服药剂量低,血浆蛋白结合率高,故对其检测要求的灵敏度高,临床上常用电化学法[9]和液质联用方法[10]检测其血浓度。

头发属于皮肤的附属器官,由角化的表皮细胞所构成,药物经血液循环进入毛发,血液中利培酮浓度常常小于其代谢产物 9- 羟利培酮的浓度,而精神类药物原体在头发中含量远远大于其代谢物。因此,检测头发中利培酮及 9- 羟利培酮用于为临床血药浓度监测提供参考具有十分重要的临床意义。国内外很早就有有关头发中抗精神类药物浓度测定方法的报道 [11, 12],但国内尚未有关于头发中利培酮及 9- 羟利培酮检测方法的报道。本研究在参考文献的基础上建立了快速准确简单的检测头发中利培酮及 9- 羟利培酮浓度检测的高效液相色谱质谱联用方法(LC-MS/MS),为临床合理用药和相关研究提供借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

Agilent 1260 系列高效液相色谱仪串联 Agilent 6430 Triple Quad LC/MS 检测器,超纯水仪 (Millipore),Sartorius CP225D 电子分析天平,PHS-3C 型精密 pH 计,H-2050R 高速离心机,XW-80A 旋涡混合器,N-EVAP112 氮吹仪,OA-SYS 水浴箱等。

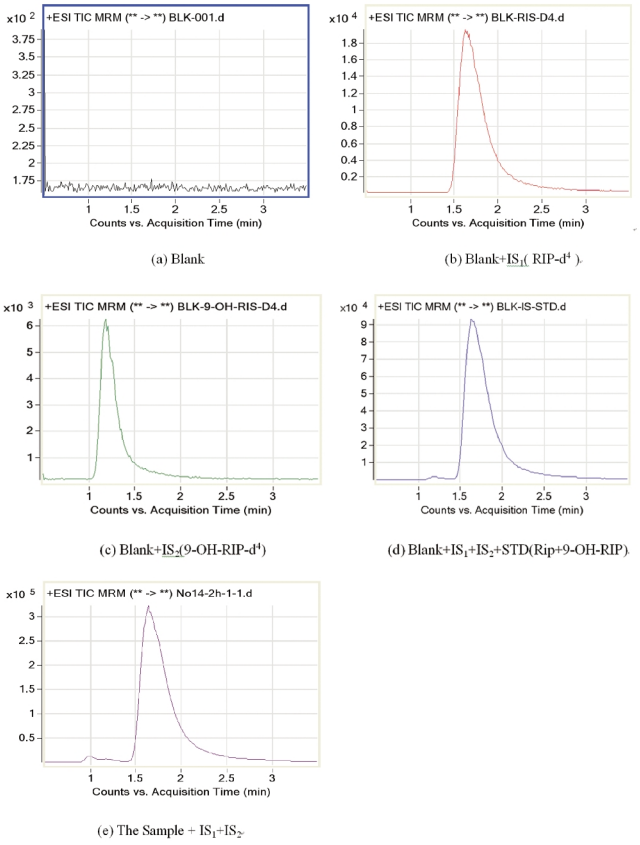
### 1.2 试剂与标准品

乙腈(Fisher 公司,批号:112189),甲醇(Fisher 公司,批号:112189)为色谱纯。其余试剂:醋酸铵、甲酸、甲基叔丁基醚(MTBE)、氢氧化钠(NaOH),浓盐酸(HCL,37.0 %)等均为分析纯。水为超纯水。利培酮 (1.0 mg/mL 的甲醇溶液,批号:FN111111-02) 购自百灵威科技有限公司;9- 羟利培酮(1.0 mg/mL 的甲醇溶液,批号:FN091412-02)标准品均购自上海安谱科学仪器有限公司,批号为:CDFX-H-076;内标:利培酮 -$d^4$ (100 μg/mL 的甲醇溶液,批号:FN013013-02),9- 羟利培酮 -$d^4$ (100 μg/mL 的甲醇溶液,批号:FN102111-01) 均购自 Sigma-Aldrich 有限公司。所有纳入采集样本研究来源的患者均签署知情同意书,本研究通过上海市精神卫生中心伦理学委员会审批(批件号:2013-27)。

### 1.3 方法

**1.3.1 色谱条件与色谱图** 应用 Zorbax SB C18,色谱柱(2.1× 50 mm,1.8 μm,安捷伦公司)。流动相为 A 为醋酸铵 (0.01 mol/L 醋酸铵,甲酸调 pH 4.0),用前经微孔滤膜过滤并超声波脱气;流动相 B 为乙腈,采用 30 %乙腈等度洗脱,流速 0.3 mL/min,柱温 30 ℃,进样量 5 μL。质谱采用电喷雾电离源(ESI+),MRM 扫描模式,采用氮气作为雾化气和辅助气,雾化气压力 35.0 psi,干燥器流速 10.0 L/min,干燥器温度 350 ℃,毛细管电压正模式 4000 V,Delta EMV (+)300 v,MRM 监测离子对:RIP:m/z 411.2→191.0,9-OH-RIP:m/z 427.2→207.1,RIP-$d^4$:m/z415.2→195.2,9-OH-RIP-$d^4$:m/z 431.2→211.1,色谱图见图 1。

**1.3.2 标准品储备液、内标工作溶液及质控工作溶液的配制** 精密吸取 1.0 mL 浓度为 1.0 mg/mL 的利培酮标准甲醇溶液至 10 mL 容量瓶中,用甲醇 / 水(1:1)溶解配制成浓度为 0.10 mg/mL 的标准品储备溶液。同样方法配制浓度为 0.10 mg/mL 的 9- 羟利培酮标准品储备溶液。




(a) Blank (b) Blank+$IS_1$( RIP-$d^4$ ).

(c) Blank+$IS_2$(9-OH-RIP-$d^4$) (d) Blank+$IS_1$+$IS_2$+STD(Rip+9-OH-RIP)

(e) The Sample + $IS_1$+$IS_2$.

**图 1 色谱总离子流图**

**(a.空白头发图;b.空白加利培酮氘代内标图;c.空白加 9- 羟利培酮氘代内标图;d.空白加内标加标准品图;e.服用利培酮后病人头发)**

Fig. 1 The TIC chromatograms

(a. spiked blank hair; b. blank with IS1, c. blank with IS2, d. blank with IS1 and IS2 risperidone and 9-hydroxyrisperidone in standard solution)

精密吸取浓度为 100 μg/mL 的氘代 - 利培酮 1.0 mL 到 10 mL 容量瓶中,配得 10.0 μg/mL 的氘代 - 利培酮标准品储备溶液,并稀释成浓度为 1.0 μg/mL 的氘代 - 利培酮内标工作溶液。同样方法配制 10.0 μg/mL 的氘代 - 利培酮标准品储备溶液,并稀释成浓度为 0.01 μg/mL 的氘代 -9 羟利培酮内标工作溶液。

**1.3.3 标准曲线的制备** 将 8 个 10 mL 带盖锥形离心试管内分别加入 400 μL 不同浓度的利培酮和 9- 羟利培酮标准品溶液,氮气吹干后各加入 20 mg 清洗过的空白头发粉末,配制成头发中含利培酮的浓度分别为 0.5、1、2、4、8、12、20、25 ng/mg。9- 羟利培酮浓度为 0.0025、0.005、0.01、0.02、0.04、0.06、0.10、0.15 ng/mg,准确加入 100 μL 氘代利培酮内标工作溶液及 50 μL 氘代 9- 羟利培酮内标工作溶液,加 1 mL 1 N 的氢氧化钠超声 2h 后,加 1 mL 1 N 的盐酸中和,再加 200 μL 1N 氢氧化钠溶液及 5.0 mL 甲基叔丁基醚萃取剂,密塞,旋涡混匀 1 min,3000× g 离心 5 min。吸取上清液置试管中,于 40℃ 水浴箱内氮气吹干。进样前加 100 μL 流动相,快速振荡数秒溶解残渣,2 μL 进质谱分析,测得药物峰面积 Ai、内标峰面积 As,以 Ai/As 的值 F 为横坐标,以血浆样品所对应各点药物浓度(C) 为纵坐

标绘制标准曲线。经加权最小二乘法进行线性回归(权重系数 $W=1/C^2$),得利培酮浓度范围在 0.5-25 ng/mg 之间,标准曲线线性方程为:$C_1$=1.10852F-0.14599,相关系数 r1= 0.99959,利培酮的最低检测限 0.5 ng/mg。9- 羟利培酮浓度范围在 0.0025-0.15 ng/mg 之间,标准曲线线性方程为:$C^2$=14.34713F-0.01190,相关系数 $r^2$ = 0.99988,9- 羟利培酮的最低检测限 0.0025 ng/mg。

1.3.4 **头发样品的处理** 取服用利培酮患者贴头皮处剪下长度大于 2 cm 的头发样品一小簇,经丙酮 - 水 - 丙酮洗涤后晾干剪至碎末状,准确称取 20 mg 放入 10 mL 带盖离心试管内。加入 100 μL 浓度为 1.0 μg/mL 的氘代利培酮内标工作溶液及 50 μL 浓度为 0.01 μg/mL 的氘代 9- 羟利培酮内标工作溶液,加入 1mL 1N 的 NaOH 溶液中超声 2 h 后,加等体积 1 N 的 HCL 中和后加 200 μL 1N 的 NaOH,再加 5.0 mL 甲基叔丁基醚涡旋 1 分钟,取上清液在 40 度水浴下氮气吹干后用 100 μL 流动相复溶,进样 2 μL。

## 2 结果

### 2.1 回收率及精密度试验

取空白血浆样本分别按本文中 2.3 方法制备头发质控溶液 (利培酮的浓度为 0.5、10、20 ng /mg,9- 羟利培酮的浓度为 0.0025、0.05、0.10 ng/mg)。上述每一浓度日内平行测定 6 次,计算日内精密度;同时每种浓度下每日测定 1 次,一共 6 次,计算日间精密度。

利用同一天内低、中、高 3 个浓度血浆标准品结果计算相对回收率;利用流动相制备相同浓度的标准品溶液,计算两种药物提取后测定的绝对回收率,结果见表 1。

**表 1 头发中利培酮、9 羟利培酮的回收率及日内、日间精密度($\bar{x}\pm s$,n =6)**

Table 1 The recoveries and precision of RIP and 9-OH RIP in hairs($\bar{x}\pm s$,n =6)

| Groups | | RIP | | | 9-OH RIP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Theoretical values (ng/mg) | | 1 | 10 | 20 | 0.005 | 0.05 | 0.10 |
| Absolute recovery (%) | | 87.44± 7.77 | 85.65± 0.87 | 91.34± 1.60 | 72.92± 3.96 | 83.48± 4.52 | 83.70± 1.57 |
| Relative recovery (%) | | 103.27± 11.42 | 93.75± 5.18 | 102.30± 1.79 | 94.80± 5.76 | 108.52± 5.88 | 100.26± 2.03 |
| Within-day precision | Measured values (ng/mg) | 1.08± 0.05 | 9.49± 0.26 | 20.46± 0.36 | 0.0047± 0.00029 | 0.0542± 0.0029 | 0.1004± 0.0019 |
| | RSD (%) | 4.8 | 2.8 | 1.8 | 6.1 | 5.4 | 1.9 |
| Between-day precision | Measured values (ng/mg) | 1.09± 0.14 | 9.51± 0.32 | 20.40± 0.52 | 0.0050± 0.051 | 0.051± 0.031 | 0.099± 0.084 |
| | RSD (%) | 13.2 | 3.4 | 2.6 | 10.1 | 6.2 | 8.5 |

**表 2 五例服用利培酮病人头发及血液中利培酮及 9- 羟利培酮药物浓度及服药时间剂量表。**

Table 2 Five samples results of the concentration of RIP and 9-OH RIP in hair with time and dose

| No. | Duration of taken drug of Risperidone | Doze/day (mg/d) | RIP | | 9-OH-RIP | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Hair(ng/mg) | Serum(ng/mL) | Hair(ng/mg) | Serum(ng/mL) |
| 1 | 1week | 3 | 0.9514 | 17.2 | <LOQ | 30.4 |
| 2 | Over 3 years | 5 | 11.2014 | 2.1 | 0.1402 | 15.5 |
| 3 | 1-3years | 3 | 6.5022 | 13.2 | 0.1093 | 1.7 |
| 4 | 1-3years | 5 | 19.6333 | 1.0 | 0.0759 | 23.1 |
| 5 | Over 3 years | 5 | 22.7953 | 14.5 | 0.1226 | 29.8 |

### 2.2 利培酮与 9- 羟利培酮的稳定性研究

按照本文 2.3 方法分别配制利培酮和 9- 羟利培酮样品(利培酮的浓度为 1、10、20 ng/mg,9- 羟利培酮的浓度为 0.005、0.05、0.01 ng/mg)每个浓度各 3 份。将配制好的样品进行如下处理:a: 室温放置 4 小时;b:-20℃ 冻存 24 h;c:-20℃ 冻存 7 d 后进行测定含量测定。结果发现上述三种处理方法均没有样品中利培酮和 9- 羟利培酮的降解,各组的 RSD 均小于 15 %。

### 2.3 临床实例测定

分别选口服利培酮(利培酮剂量为 3-5 mg/d)时间在 1 周以上的患者五例测定其贴头皮处 2 cm 内头发中药物浓度。结果见表 2,由表 2 可以看出服用利培酮 1 周即可从头发中检测出该药物的浓度,但代谢物很少被检测到,而且不同患者服用相同剂量的药物,头发中利培酮的浓度存在较大差异,头发中 9- 羟利培酮浓度远远低于血液中 9- 羟利培酮浓度,因此,对于服用利培酮的病人进行头发中利培酮及其代谢物的检测具有血液中不可替代的作用。

## 3 讨论

抗精神病药类药物的使用范围窄, 急性中毒较为常见,其发病急,症状重,可引起意识障碍、昏迷、呼吸抑制,如不及时妥善治疗可以危及患者生命[13]。此外,其用药剂量和临床效果之间关系不稳定,如同一剂量的药物在一个患者身上产生理想的药理作用,而在另外一个患者身上则可能引起毒性作用[14]。这通常成为服药患者发病和致死的因素,因此在临床使用中需要进行治疗药物监测[15]。药理研究的结果表明利培酮在体内可迅速分布,血浆蛋白结合率为 88 %,9- 羟利培酮的血浆蛋白结合

率为 77 %。该药的消除半衰期为 3 h 左右,抗精神病有效成分的消除半衰期为 24 h, 大多数病人在 1 d 内达到利培酮的稳态,经过 4-5 d 达到 9- 羟利培酮的稳态,用药 1 周后 70 %的药物经尿液排泄[16]。血液中利培酮代谢物 9 羟利培酮含量普遍大于利培酮浓度,且其总浓度与临床效应存在相关[17],单独利培酮浓度与剂量和效应均不成比例[18],而头发中利培酮药物原体远远大于代谢物 9- 羟利培酮浓度[11],由此推测头发中利培酮浓度比血液中浓度稳定更能反映原体药物在体内的真实浓度。此外,头发样本作为检材具有无创伤性,易保存,可变性较小,可多次重复采样,重复差异及受外界污染小,检测窗可达检测数月甚至数年,可以提供个体长期使用药物的信息[19]等优点,可用于临床中擅自停药,漏服、滥用药等信息的追朔,极具临床应用价值。因此,开发头发中的利培酮及其代谢物 9- 羟利培酮的检测具有辅助诊断、治疗的重大意义。

文献中对头发的前处理方式有酸化、碱化、酶解等[20,21],但不同药物在不同条件下提取率各不相同。有文献报道利培酮在 80 度水浴下碱消化下回收率小于 15 %[22], 本文在前处理过程中,采用阳性头发样本在不同条件下进行浸泡超声提取,考察了 0.1 N 盐酸,0.1 N 氢氧化钠,1 N 氢氧化钠,2 N 氢氧化钠,1 N 盐酸等条件下的提取效率,发现 1 N 或 2 N 氢氧化钠溶液下超声 1 小时后均可以提取出头发中利培酮,但 2 N 氢氧化钠提取时间 3 小时会降低物质浓度,提取 1 小时 1 N 氢氧化钠提取效率小于 2 N 的氢氧化钠,选择 1 N 氢氧化钠溶液超声提取 2 小时效率最好;且在中和后调 pH 值时分别考察了 pH 9.2 的磷酸盐、0.1 N 氢氧化钠及 1N 氢氧化钠下采用等甲苯、正己烷、甲基叔丁基醚、乙醚、乙酸乙酯等为萃取剂,实验结果表明采用 0.1 N 氢氧化钠时,甲基叔丁基醚作为提取溶剂提取效率最高,且操作简单方便,在该条件下提取回收率在 70 %以上,且重复性好。对服药不同时间的病人贴头皮处取头发样本,研磨后进样分析,发现服药 1 周以上即可在头发中检测出药物,但同样剂量的患者样本浓度比长期用药的患者样本浓度低,推测进入头发还需要代谢时间,因此对其时间和剂量关系及不同分段头发的药物浓度之间关系还有待进一步研究。

## 参 考 文 献(References)


[1] 苏芬丽, 周志凌, 李焕德. HPLC-MS 法检测利培酮与 9- 羟利培酮的血浆浓度及在临床药动学的应用 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26(2): 207-211
Su Fen-li, Zhou Zhi-ling, Li Huan-de. HPLC-MS determination of risperidone and 9-hydroxy-risperidone in plasma and its application in clinical pharmacokinetics study [J]. China J Pharm Anal, 2006, 26 (2):207-211

[2] Laffont CM, Gomeni R, Zheng B, et al. Population pharmacokinetics and prediction of dopamine D2 receptor occupancy after multiple doses of RBP-7000, a new sustained-release formulation of risperidone, in schizophrenia patients on stable oral risperidone treatment[J]. Clinical pharmacokinetics, 2014, 53(6): 533-543

[3] Farrelly LA, Dicker P, Wynne K, et al. Adolescent Risperidone treatment alters protein expression associated with protein trafficking and cellular metabolism in the adult rat prefrontal cortex [J]. Proteomics, 2014, 14(12): 1574-1578

[4] 高哲石. 精神分裂症的药物治疗进展 [J]. 世界临床药物, 2007, 28(04): 204-208
Gao Zhe-shi. Advances in the treatment of schizophrenia drug [J]. World clinical drugs, 2007, 28(04): 204-208

[5] 王来海, 张瑞岭, 张红星, 等. 帕利哌酮与利培酮治疗首发精神分裂症的临床疗效与安全性 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2012, 12 (08): 725-728
Wang Lai-hai, Zhang Rui-ling, Zhang Hong-xing, et al. Efficacy and Safety of Paliperidone vs Risperidone for First-episode Schizophrenia [J]. Evaluation and analysis of drug-use in hospitals of China, 2012, 12(08): 725-728

[6] 顾牛范, 李华芳, 宋立升,等.利培酮治疗精神分裂症多中心开放性研究[J].上海精神医学, 1998, 10(03): 127-130+136-146
Gu Niu-fan, Li Hua-fang, Song Li-sheng, et al. A mul-ticenter placebo-controlled study of fixed doses of risperidone treatment of schizophrenia [J]. Shanghai Archives of Psychiatry, 1998, 10 (03): 127-130, 136-146

[7] Lee KS, Chae SW, Park JH, et al. Effects of single or repeated silymarin administration on pharmacokinetics of risperidone and its major metabolite, 9-hydroxyrisperidone in rats [J]. Xenobiotica, 2013, 43(3): 303-310

[8] Mannens G, Huang ML, Meuldermans W, et al. Absorption, metabolism, and excretion of risperidone in humans [J]. Drug metabolism and disposition, 1993, 21(6): 1134-1141

[9] 林治光, 李华芳, 翁毅仁, 等. HPLC- 电化学检测法测定人血清中利培酮及 9- 羟利培酮浓度[J]. 四川精神卫生, 2007, 20(02): 65-68
Lin Zhi-guang, Li Hua-fang, Weng Yi-ren, et al. Determination of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in human serum by HPLC with electrochemical detector [J]. Sichuan mental health, 2007, 20 (02): 65-68

[10] Cabovska B, Cox SL, Vinks AA. Determination of risperidone and enantiomers of 9-hydroxyrisperidone in plasma by LC-MS/MS [J]. Journal of chromatography B, 2007, 852(1-2): 497-504

[11] Schneider S, Sibille E, Yegles M, et al. Time resolved analysis of risperidone and 9-hydroxy-risperidone in hair using LC/MS-MS [J]. Journal of chromatography B, 2009, 877(24): 2589-2592

[12] 沈敏, 向平, 沈保华, 等. 头发中抗抑郁药及抗精神病药的检测及评价[J].法医学杂志, 2000, 16(03): 148-152, 191
Shen Min, Xiang Ping, Shen Bao-hua, et al. Detection of antidepressant and antipsychotic drugs in human's hair [J]. Journal of Forersic, 2000, 16(03): 148-152, 191

[13] Cai HL, Fang PF, Li HD, et al. Abnormal plasma monoamine metabolism in schizophrenia and its correlation with clinical responses to risperidone treatment [J]. Psychiatry research, 2011, 88 (2): 197-202

[14] Khorana N, Maphanta S, Lohitnavy O, et al. Comparative pharmacokinetics and bioequivalence of two tablet formulations of 2 mg risperidone in healthy Thai male volunteers [J]. International journal of clinical pharmacology and therapeutics, 2011, 49(6): 409-414

[15] Sommers DK, Snyman JR, van Wyk M, et al. Lack of effect of amitriptyline on risperidone pharmacokinetics in schizophrenic patients[J]. International clinical psychopharmacology, 1997, 12(3): 141-145


(下转第 2241 页)

[3] Erdogan M,Solmaz S,Canataroglu A.Plasma thrombinactivatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) antigen levels in diabetic foot ulcers[J]. Endocrine, 2010, 37(3): 449-454

[4] Meijer VE, Vant Sant HP, Spronk S, et al. Reference value of transcutaneous oxygen measurement in diabetic patients compared with nondiabetic patients[J].J Vasc Surg, 2008, 48(2): 382-388

[5] Jaquinandi V, Mahe G, Leftheriotis G, et al. Regarding " Reference value of transcutaneous oxygen measurement in diabetic patients compared with nondiabetic patients" [J]. J Vasc Surg, 2009, 49(1): 279-280

[6] Bharara M, Najafi B, Armstrong DG. Methodology for use of a neuroprosthetic to reduce plantar pressure:applications in patients with diabetic foot disease [J]. J Diabetes Sci Technol, 2012, 6(1): 222-224

[7] Sigaudo-Roussel D, Demiot C, Fromy B, et al. Early endothelial dysfunction severely impairs skin blood flow response to local pressure application in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Diabetes, 2004, 53(6): 1564-1569

[8] 李峥璟,柏素萍,孙炳伟.糖尿病溃疡形成机制的研究进展[J].江苏大学学报(医学版), 2012, 22(4): 363-366
Li Zheng-jing, Bo Su-ping, Sun Bing-wei. Progress in the formation mechanism of diabetic ulcers [J]. Journal of Jiangsu University (Medicine Edition), 2012, 22(4): 363-366

[9] Christianson JA, Ryals JM, Johnson MS, et al. Neurotrophic modulation of myelinated cutaneous innervation and mechanical sensory loss in diabetic mice[J].Neuroscience, 2007, 145(1): 303-313

[10] Dellon AL, Muse VL, Nickerson DS, et al. Prevention of ulceration, amputation and reduction of hospitalization:outcomes of a prospective multicenter trial of tibial neurolysis in patients with diabetic neuropathy[J].J Reconstr Microsurg, 2012, 28(4): 241-246

[11]Petkar KS, Dhanraj P, Kingsly PM, et al. A prospective randomized controlled trial comparing negative pressure dressing and conventional dressing methods on split-thickness skin grafts in burned patients[J]. Burns, 2011, 37(6): 921-925

[12] Stannard JP, Volgas DA, Mc Gwin, et al. Incisional negative pressure wound therapy after high-risk lower extremity fractures [J]. J Orthop Trauma, 2012, 26(1): 37-42

[13] Borgquist O, Ingemansson R, Malmsjo M. Wound edge microvascular blood flow during negative-pressure wound therapy: examining the effects of pressures from-10 to-175 mmHg [J]. Plastic and reconstructive surgery, 2010, 125(2): 502-509

[14] Hutchison RL, Craw JR. Use of acellular dermal regeneration template combined with NPWT to treat complicated extremity wounds in children[J]. J of Wound Care, 2013, 22 (12): 708-712

[15] Peer SM. Negative pressure wound therapy for sternal wound infections following congenital heart surgery [J]. J of Wound Care, 2014, 23(1): 31-36

[16] 焦娇,王鹏华,褚月颉,等.封闭负压引流促进糖尿病足溃疡愈合机制的研究[J].国际内分泌代谢杂志, 2014, 34(1): 10-14
Jiao-jiao, Wang Peng-hua, Chu Yue-ji, et al. Study of the mechanism of vacuum assisted closure in promoting the healing of diabetic foot ulcers [J]. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 2014, 34(1): 10-14

[17] Irkoren S, Sivrioglu N, Karaca H. Rare Complication After VAC Therapy in the Treatment of Tissue Defect Due to Surgical Excision of Pilonidal Sinus [J]. J of Wound Ostomy & Continence Nursing, 2013, 40(6): 641-643

[18] Niitsuma J, Yano H, Togawa T. Experimental study of decubitus ulcer formation in the rabbit ear lobe[J]. J Rehabil Res Dev, 2003, 40 (1): 67-73

（上接第 2224 页）

[16] Huang ML, Van Peer A, Woestenborghs R, et al. Pharmacokinetics of the novel antipsychotic agent risperidone and the prolactin response in healthy subjects [J]. Clinical pharmacology and therapeutics, 1993, 54(3): 257-268

[17] 李华芳, 李鸣, 林治光, 等. 利培酮的血药浓度与临床效应的关系[J].上海精神医学, 1999, 11(04): 189-192
Li Hua-fang, Li Ming, Lin Zhi-guang, et al. The relationships between plasma concentration of risperidone and clinical effects [J]. Shanghai Archives of Psychiatry, 1999, 11(04): 189-192

[18] 魏传梅, 傅崇明, 郭瑞臣. 利培酮与 9-羟利培酮对精神分裂症患者血药浓度与剂量的关系[J].中国医院药学杂志, 2005, 25(07): 607-608
Wei Chuan mei, Fu Chong ming, Guo Rui-chen. The relationship between dose of risperidone and the steady plasma concentrations of risperidone and 9-HYdroxyrisperidone in schizophrenic patients [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2005, 25(07): 607-608

[19] 刘丹, 李上勋, 周鑫,等. 毛发分析的临床及法医学应用研究[J]. 中外医疗, 2010, 29(18): 178-179
Liu Dan, Li Shang-xun, Zhou Xin, et al. Clinical and application in forensic medicine research of hair analysis [J]. China Foreign Medical Treatment, 2010, 29(18): 178-179

[20] 向平. 毛发分析基础及应用[M].北京:科学出版社, 2010: 1-13
Xiang Ping. Fundamentals and applications of hair analysis [M]. Beijing: science press, 2010: 1-13

[21] 沈敏. 体内滥用药物分析方法 (II)-- 毛发中滥用药物分析方法[J]. 中国司法鉴定, 2004, 73(02): 30-35
Shen Min. The analysis methods of drug abuse in human (II)--The analysis methods of drug abuse in hairs [J]. Chinese Journal of Forensic Sciences, 2004, 73(02): 30-35

[22] McClean S, O'Kane EJ, Smyth WF. Electrospray ionisation-mass spectrometric characterisation of selected anti-psychotic drugs and their detection and determination in human hair samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of chromatography B, 2000, 740(2): 141-157