



吕龙宝, 正高级工程师, 中国科学院昆明动物研究所实验动物中心主任, 国家非人灵长类实验动物资源库常务副主任。兼任中国实验动物学会第七届理事会常务理事、中国合格评定国家认可委员会实验动物机构认可评审员、中国实验灵长类养殖开发学会副会长、中国实验动物学会福利伦理专业委员会委员、中国科学院实验动物工作委员会委员、中国实验动物学会实验动物标准委员会副主任委员、云南省实验动物学会秘书长、昆明市实验动物行业协会副理事长等。长期从事非人灵长类、树鼩、大鼠、小鼠等实验动物的基础生物学、神经生物学、疾病动物模型、动物实验关键技术、资源保存与利用、树鼩实验动物化研究等工作, 树鼩近交品系成功培育至7代。目前主持国家项目1项、省部级项目4项; 已获授权专利15项, 主持和参与编制国家标准2项、地方标准9项、行业标准5项、团体标4项; 发表中英文论文70余篇; 主持和参与编写《脑外伤比较图谱》、《中国大百科全书》、《中华医学百科全书·实验动物学》、《树鼩基础生物学与疾病模型》等著作12部。曾获中国科学院关键技术人才、云南省技术创新人才。

浅谈微量采血法在药物非临床研究中的应用及3R原则的贯彻

陈佳琦, 吕龙宝, 张飞燕, 李 瑞, 李乙江, 李丽红, 张晓迪

(中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650223)

[摘要] 药物开发中的实验动物福利伦理备受关注, 如何善待动物已成为一个重要课题。微量采血法(blood microsampling)克服了常规大容量采血方法操作复杂、对动物的伤害大、对啮齿类动物的数量要求高等诸多缺点, 在动物福利、科学性和成本方面均有极大优势, 其应用被认为是落实3R原则的重要实践。本文介绍微量采血法的最新研究进展以及在非临床研究中应用的优势和挑战, 以期推动这项新技术在药物开发领域内更广泛应用。

[关键词] 微量采血法; 药物; 非临床; 3R原则

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)04-0306-07

Application of Blood Microsampling and Its Implementation of the 3Rs in Non-clinical Studies of Drugs

CHEN Jiaqi, LÜ Longbao, ZHANG Feiyan, LI Rui, LI Yijiang, LI Lihong, ZHANG Xiaodi

(Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Correspondence to: LÜ Longbao (ORCID:0000-0002-8437-6333), E-mail: lvlongbao@mail.kiz.ac.cn

[ABSTRACT] The welfare and ethics of laboratory animals in drug development has attracted increasing attention, and how to treat animals well has become an important topic. Blood microsampling overcomes several disadvantages of conventional large-volume blood sampling methods, such as complex operation, great harm to animals and high requirement on rodent quantity, and has great advantages in animal welfare, scientificity and cost. Therefore, its application is regarded as an important practice to implement the 3Rs. This article reviewed the latest research progress of blood microsampling, and its advantages and challenges in non-clinical studies in order to promote the wider application of this new technique in this field.

[Key words] Blood microsampling; Drug; Nonclinical; 3Rs principle

[第一作者] 陈佳琦(1987—), 女, 工程师, 硕士, 研究方向: 实验动物的福利伦理。E-mail: chenjiaqi@mail.kiz.ac.cn

[通信作者] 吕龙宝(1974—), 男, 正高级工程师, 硕士, 研究方向为实验动物的标准化与基础生物学。E-mail: lvlongbao@mail.kiz.ac.cn。

ORCID: 0000-0002-8437-6333

药物临床前的评价研究离不开实验动物的条件技术支持。为探究药物的有效性和安全性，为人类临床试验提供参考，需要开展各种体内外实验，包括药效学(pharmacodynamics)、药代动力学(pharmacokinetics)和毒代动力学(toxicokinetic)等评价研究。作为动物离体器官、组织、细胞的“捐献者”，以身试病、以身试药、以身试毒的“受难者”，实验动物为人类及动物的健康作出了巨大贡献和牺牲。随着科学技术的发展与社会文明的进步，如何处理动物实验引发的伦理学问题，已成为药物研发中的一个重要课题。

以替代(replacement)、优化(refinement)和减少(reduction)为核心的3R原则为缓和与化解实验动物伦理矛盾提供了一种可行的解决理论。3R原则是现代科学研究中使用动物的基本原则^[1]。世界范围内，已有上百个国家制定了实验动物福利相关的法律法规及标准，这些法律及标准的核心均是3R原则。欧盟2010年颁布的《保护实验动物2010/63/EU号指令》也明确了3R原则的指导性地位^[2]。我国修订中的《实验动物管理条例》《关于善待实验动物的指导性意见》《实验动物福利伦理审查指南》等法规及标准中也明确了3R原

则。因此，3R原则是实验动物福利伦理的核心体现。

生物分析技术的进步，开启了微量血样分析的时代，也带动了微量采血法的发展。微量采血法是指血液样本不超过50 μL^[3]的采集程序。该技术最大的特征是样品体积的微小化，例如利用Gyrolab免疫实验平台，血液样本的体积可缩小至4 μL^[4]。在药物非临床研究中应用微量采血法，被认为是贯彻3R原则的重要实践，得到了国际人用药品注册技术协调会(International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)的认可^[5]。因此，本文聚焦于药物非临床研究领域，介绍了微量采血法的最新研究进展以及应用的优势和挑战，以期推动该技术更广泛的应用，促进药物研发与动物福利伦理的协调发展。

1 不同微量采血法的最新进展

非临床研究中，有几种常用的微量采血法。实际应用过程中，方法的选择应考虑到每种方法的适用条件和特点(表1)。

表1 非临床研究中几种常见的微量采血法

Table 1 Common approaches for blood microsampling in non-clinical studies

微量采血法 Blood micro-sampling method	基质类型 Matrix type	基质形式 Matrix form	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
DBS	全血	干燥	无需离心, 储存和运输方面要求低	全血数据与血浆数据转化复杂, HCT效应, 需要特殊的提取技术
DPS	血浆	干燥	储存和运输方面要求低	需要特殊的提取技术, 可能需要离心
VAMS	全血、血浆、血清	干燥	储存和运输方面要求低, 样品体积准确	全血数据与血浆数据转化复杂, 血浆、血清制备程序复杂
CMS	全血、血浆、血清	液体	样品体积准确	储存和运输要求高(-20℃), 血浆、血清制备操作不便

注: DBS为干血斑, DPS为干血浆斑, VAMS为固定体积采血, CMS为毛细管微量采血, HCT为血细胞比容。
Note: DBS, dried blood spot; DPS, dried plasma spot; VAMS, volumetric absorptive microsampling; CMS, capillary microsampling; HCT, hematocrit.

1.1 干血斑(dried blood spot, DBS)

DBS, 即将约15 μL的全血样品直接滴到卡纸上, 样品在常温干燥后, 通过使用打孔器获得相同尺寸的滤纸片, 用于样品的提取和分析。DBS因具有微创、简单、易于存储和运输等优点, 五十多年来一直是临床上新生儿遗传代谢性疾病筛查的常用采血方法。

2004年, Beaudette和Bateman^[6]将DBS引入到非临床研究中, 并证明了其在药物发现阶段的潜力后, DBS技术迅速推广。Clark等^[7]开发了一套高灵敏度的通用性分析方法, 可使90%测试化合物的定量下限为1 ng/mL, 并将其应用于小鼠药代动力学研究, 得到了更高质量的药代动力学特征。Barfield等^[8]将DBS首

次用于非临床安全性评价研究,观察到从犬血DBS样品中获得的乙酰氨基酚毒代动力学特征与液态基质血样的相当。

近来,研究人员对DBS的研究热情因其在临床应用中暴露出来的生物分析问题而有所降低。DBS的生物分析问题均与基质为全血有关。具体来说,血细胞比容(hematocrit, HCT)会影响斑点的大小^[9]和目标分析物的提取,进而在定量生物分析中引入系统误差^[10]。这对于遗传均一性良好的实验动物来说,可能并不是太大的问题,但在开发红细胞增多症、贫血、癌症等疾病的药物时,应特别关注。业界在过去几年内也提出了几种解决方案:一是通过基于钾离子浓度或血红蛋白浓度^[11]来估计和校准DBS样品中的HCT;二是改变滤纸材料,如采用疏水纸,减少血纸互动^[12];三是通过滤纸片预打孔^[13]或滤纸片周围增设滤纸环^[14],配备“计量芯片”^[15]等技术收集和存储准确体积的血液。这些技术的改进,大大促进了DBS的应用和发展。

1.2 干血浆斑(dried plasma spot, DPS)

DPS与DBS相似,唯一不同的是滴在卡纸上的是血浆样品。DPS保留了DBS的许多优点(稳定性好,保存和运输方便),同时解决了DBS最大的问题(HCT效应)。缺点是血液需要离心处理,且所需血量要加倍。在一项以犬为模型的研究中, Li等^[16]分析了不同方法(通过移液器或SAFE-TEC)制备的DPS样品中利托那韦的浓度,结果显示与液态血浆中的药物浓度一致,试验样品再分析(incurred sample reanalysis)的结果也表明DPS技术可稳定检测。之后, Li等^[17]的对比研究显示从大鼠尾静脉连续采血制备DPS样品或液态血浆中多乙酰氨基酚及其代谢产物对乙酰氨基酚葡萄糖苷酸(APAP-gluc)和对乙酰氨基酚硫酸结合物(APAP-sulf)的浓度,与从舌下静脉采集的血浆中浓度不相上下,且连续收集毒代动力学样品并未增加动物的应激水平,从而证明了DPS在大鼠毒代动力学研究中的实用性。

相较于其他微量采血技术, DPS在非临床研究中的应用很少,可能与干燥基质的验证负担以及复杂的操作程序有关。该技术最新的改进主要是提高了操作和分析的自动化水平,包括在DBS的基础上增加红细胞过滤膜^[18-20]以简化采样程序,引入微流体过滤和自动计量技术^[21]以快速获得准确体积的血浆,以及开发与现有DBS机器人技术兼容的DPS卡^[19-20]。

1.3 固定体积采血法(volumetric absorptive microsampling, VAMS)

VAMS是采样设备的吸头不完全浸入全血、血浆或血清中,通过毛细作用准确收集特定体积血样的方法。干燥后,血样被运送到生物分析实验室进行处理。VAMS也是DBS的一个改进版,几乎拥有DBS的全部优点,且不用考虑HCT的影响^[22-23],操作更方便,更适合自动化处理。经多项方法验证,已有文献报告证明了VAMS应用于非临床研究的可行性^[24-26]。VAMS的首次实际应用是Denniff等^[27]对乙酰氨基酚的大鼠毒代动力学研究。这项研究中,VAMS样品和液态稀释血样表征的药-时曲线下面积很接近,但药峰浓度之间出现了40%的差异,差异的原因可能与样本量小有关,而与采血方法无关。Thiry等^[28]通过优化生物分析方法,将VAMS成功应用于4种伊曲康唑制剂的生物利用率的评估实验中。

值得一提的是,虽然VAMS在基质选择上比DBS更为灵活,但选择全血为基质时同样面临需要关联全血浓度和血浆浓度的问题,选择其他基质类型,需要利用其他设备来制备血浆或血清,操作较为复杂。

1.4 毛细管微量采血法(capillary microsampling, CMS)

CMS是指用毛细管准确收集固定体积全血、血浆或血清的方法。典型的过程是将毛细管的一端浸入血液中,通过毛细作用准确收集全血,完成后可直接进行低温保存,也可进行稀释、分离血浆或血清等预处理。CMS被视为最有潜力的微量采血法,因为它除了样品量的减少外,与常规采样并没有本质区别^[29-31]。基质的形式未发生改变,避免了进行“干基”和“湿基”之间的桥连研究,且CMS多用于制备应用最广泛的血浆样品,不需要全血和血浆数据之间建立联系的复杂过程。与普通DBS相比,CMS所采样品体积更准确^[30],与基质的生理特性(如HCT)无关。受DBS的启发,人们很快将CMS应用到非临床研究中,评估了小鼠、大鼠和犬等物种的药代动力学、毒代动力学参数,结果证明该技术给出的结果与常规方法有高度可比性^[31-36]。

CMS的缺点是操作复杂,分离血浆或血清时需要切割毛细管,存在扎伤风险。不过有研究者提出了一种带触变性凝胶(离心时在血细胞和血浆间形成物理屏障)的毛细管^[37],这种改良的毛细管省去了切割步骤,提高了操作的便利性和安全性。

2 微量采血法的应用优势

2.1 动物福利方面

微量采血法有助于3R原则中“优化”的实现。由于所需血量很少,根据实验性质可选择动物的疼痛、组织损伤及压力最小且操作更简单的采血部位和程序。常用的采血部位通常是大鼠、小鼠的侧尾静脉、隐静脉,兔的耳缘静脉,犬、猴的头静脉。对于啮齿类动物和兔来说,可大幅缩短采血前通过加热或施加化学刺激物等措施促进血管扩张的时间^[38]。对于所有动物而言,采血过程中不需要或仅需要很小程度的身体限制,保证了人员安全,避免了动物应激。在Powles-Glover等^[38]的研究中,高达62%的大鼠在未进行任何身体限制的情况下被成功实施了微量采血法。常用的采血针规格为23 G,故对动物身体的损伤极小^[39]。另外,由于操作简单方便,采样程序可直接在动物设施中进行。

除了“优化”,微量采血法也有利于“减少”的实现。非临床研究中,对动物数量影响最大的是药代动力学和毒代动力学研究。常规啮齿类动物的药代动力学研究设计,一般在24 h内设6~12个采血时间点,每个时间点每个组至少3只动物,以充分解析药物的动力学性质。由于血容量和采样部位等^[40]的限制,每个组需要24~36只小鼠或者6~9只大鼠^[41-42]。毒代动力学与药代动力学类似,但是给药剂量更高。常规啮齿类动物的安全性评价中,为避免干扰毒理学终点,毒代动力学样本是由主要研究动物之外的卫星动物提供的,这使得动物用量更大。微量采血法结合灵敏的生物分析技术,使血样体积微小化,允许在特定时间内对同一动物同一位点进行多次采样,因此可以大幅减少动物的用量。据报告,与传统采样相比,微量采血法可减少66%~95%^[28, 43-50]的动物用量,当然具体减少幅度取决于研究类型、物种、采血方案等因素。

2.2 科学方面

微量采血法允许重新设计非临床研究方案,以更少的动物获得足够多的优质数据,提高了研究的转化价值。“多”体现在检测指标、药-时曲线数量的增加^[48],以及可获得常规方法难以采集的信息,实现信息的最大化。“优质”来源于两个方面:一是不易造成动物过度的应激反应,对药代动力学或毒代动力学参数的干扰较小,这在肝提取率较高的药物研发中尤为

重要;二是对于啮齿类动物,同一个体的药理学或毒理学效应可直接与药物暴露关联,而且每只啮齿类动物都可能拥有完整的药代动力学/毒代动力学特征,个体间的变异系数降低了。Joyce等^[47]研究了微量采血法所得药代动力学参数的个体间变异系数,结果显示传统采血的高达150%,而微量采血法的不超过30%。

2.3 成本方面

微量采血法可有效节约成本。随着动物用量减少,药物、动物、实验用品和实验人员等直接成本大幅下降,尤其在药物量十分有限的发现阶段和利用昂贵的转基因小鼠^[34, 47]开展的研究中。另一方面,以较低的成本获得充足的优质数据,意味着可以用少量的资源开展实验,从而快速做出决策,这对药物发现项目都相当有利。例如,在药物发现阶段早期,筛选具有合适的生物利用率的化合物,可采用连续微量采血法将6种化合物的药代动力学研究同时进行,这样的动物用量可减少80%,药物材料可减少75%,研究时间减少40%^[47]。当然,成本的节约程度取决于具体的研究类型、物种、采血方案等^[51]。

3 微量采血法的应用挑战

目前,微量采血法的发展面临着两个挑战。一是提升检测微小体积样本中目标分析物的能力。样品体积的减少,制备和运输方式等的改变,可能会给检测的准确度和灵敏度造成不利影响。绝大多数目标分析物与高灵敏度的分析方法(液相色谱-质谱联用法LC-MS/MS和Cyrolab免疫实验平台)兼容,可使用10 μ L或更少的样品就达到足够的灵敏度,而对于药物为肽类和核酸类等具有特殊分子结构和性质的物质,可能还需要开发灵敏度更高的生物分析方法。二是毒理学解释的能力。啮齿类动物的非临床安全性评价中,收集毒代动力学血样可能会对主要研究动物的器官功能和临床病理参数产生影响。有研究人员对此进行了调查,结果表明:在正常及某些特殊生理状态(如妊娠)的啮齿类动物上实施微量采血法,对毒理学评价终点的影响是微乎其微的^[32, 37, 43-45, 52-53]。当然,为支持微量采血法的更广泛应用,还需要继续开展相关的配套研究,如针对具有特殊分子结构和性质的物质,开发灵敏度更高的生物分析方法,进一步探索各种毒性研究中对主要研究动物实施微量采血法收集毒代动力学样本的影响等。

4 小结

在药物非临床研究中,微量采血法能提高动物福利,减少动物的用量,获得足够、优质数据,降低研发成本,是值得推广的一项新技术。但是,未来还需要继续开展该方法及其相关的配套研究,以促进其更广泛的应用,实现科学进步与动物福利伦理进步并行。

[作者贡献 Author Contribution]

陈佳琦负责文献查阅和整理,以及文章撰写与修改;吕龙宝负责文献查阅和整理,并对文章撰写提供指导,以及对全文进行修改;张飞燕参与文章思路及整体内容的讨论和全文修改;李瑞负责临床前研究和生物分析相关知识的讨论和梳理;李乙江、李丽红:提供文章整体内容的修改建议;张晓迪参与文章思路及整体内容的讨论。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] MACARTHUR CLARK J. The 3Rs in research: a contemporary approach to replacement, reduction and refinement[J]. *Br J Nutr*, 2018, 120(s1): S1-S7. DOI:10.1017/S0007114517002227.
- [2] 莫菲. 比较法视野中的实验动物伦理与安全法治模式: 兼谈实验动物法与中国特色动物保护法体系建设的关系[J]. *法学评论*, 2021, 39(6):148-158. DOI:10.13415/j.cnki.fxpl.2021.06.013.
MO F. Rule of law model of experimental animal ethics and safety in perspective of comparative law[J]. *Law Rev*, 2021, 39(6):148-158. DOI:10.13415/j.cnki.fxpl.2021.06.013.
- [3] CHAPMAN K, CHIVERS S, GLIDDON D, et al. Overcoming the barriers to the uptake of nonclinical microsampling in regulatory safety studies[J]. *Drug Discov Today*, 2014, 19(5): 528-532. DOI:10.1016/j.drudis.2014.01.002.
- [4] JONSSON O, STEFFEN A C, SUNDQUIST V S, et al. Capillary microsampling and analysis of 4- μ l blood, plasma and serum samples to determine human α -synuclein elimination rate in mice[J]. *Bioanalysis*, 2013, 5(4):449-462. DOI:10.4155/bio.12.337.
- [5] ICH. Questions and answers to ICH s3a: note for guidance on toxicokinetics: the assessment of systemic exposure in toxicity studies focus on microsampling [EB/OL]. (2017-11-16). https://database.ich.org/sites/default/files/S3A_Q%26As_Q%26As.pdf.
- [6] BEAUDETTE P, BATEMAN K P. Discovery stage pharmacokinetics using dried blood spots[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2004, 809(1):153-158. DOI:10.1016/j.jchromb.2004.06.018.
- [7] CLARK G T, HAYNES J J, BAYLISS M A J, et al. Utilization of DBS within drug discovery: development of a serial microsampling pharmacokinetic study in mice[J]. *Bioanalysis*, 2010, 2(8):1477-1488. DOI:10.4155/bio.10.91.
- [8] BARFIELD M, SPOONER N, LAD R, et al. Application of dried blood spots combined with HPLC-MS/MS for the quantification of acetaminophen in toxicokinetic studies[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2008, 870(1): 32-37. DOI:10.1016/j.jchromb.2008.05.025.
- [9] COBB Z, DE VRIES R, SPOONER N, et al. In-depth study of homogeneity in DBS using two different techniques: results from the EBF DBS-microsampling consortium[J]. *Bioanalysis*, 2013, 5(17):2161-2169. DOI:10.4155/bio.13.171.
- [10] FREY B S, DAMON D E, BADU-TAWIAH A K. Emerging trends in paper spray mass spectrometry: Microsampling, storage, direct analysis, and applications[J]. *Mass Spectrom Rev*, 2020, 39(4):336-370. DOI:10.1002/mas.21601.
- [11] CAPIAU S, WILK L S, AALDERS M C G, et al. A novel, nondestructive, dried blood spot-based hematocrit prediction method using noncontact diffuse reflectance spectroscopy[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(12): 6538-6546. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b01321.
- [12] DAMON D E, YIN M Z, ALLEN D M, et al. Dried blood spheroids for dry-state room temperature stabilization of microliter blood samples[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(15): 9353-9358. DOI:10.1021/acs.analchem.8b01962.
- [13] YOUHNOVSKI N, BERGERON A, FURTADO M, et al. Pre-cut dried blood spot (PCDBS): an alternative to dried blood spot (DBS) technique to overcome hematocrit impact[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2011, 25(19):2951-2958. DOI:10.1002/rcm.5182.
- [14] NAKAHARA T, OTANI N, UENO T, et al. Development of a hematocrit-insensitive device to collect accurate volumes of dried blood spots without specialized skills for measuring clozapine and its metabolites as model analytes[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1087-1088:70-79. DOI:10.1016/j.jchromb.2018.04.019.
- [15] LENK G, SANDKVIST S, POHANKA A, et al. A disposable sampling device to collect volume-measured DBS directly from a fingerprick onto DBS paper[J]. *Bioanalysis*, 2015, 7(16): 2085-2094. DOI:10.4155/bio.15.134.
- [16] LI W K, DOHERTY J, FAVARA S, et al. Evaluation of plasma microsampling for dried plasma spots (DPS) in quantitative LC-MS/MS bioanalysis using ritonavir as a model compound [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 991: 46-52. DOI:10.1016/j.jchromb.2015.03.026.
- [17] LI W K, DUGYALA R, DEVINE P J, et al. Application of tail vein serial microsampling for plasma or dried plasma spots in toxicokinetic assessment in rats using acetaminophen as the model compound[J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(10): e4917. DOI:10.1002/bmc.4917.
- [18] LI Y Y, HENION J, ABBOTT R, et al. The use of a membrane filtration device to form dried plasma spots for the quantitative determination of guanfacine in whole blood[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2012, 26(10):1208-1212. DOI: 10.1002/rcm.6212.
- [19] STURM R, HENION J, ABBOTT R, et al. Novel membrane devices and their potential utility in blood sample collection prior to analysis of dried plasma spots[J]. *Bioanalysis*, 2015, 7(16):1987-2002. DOI:10.4155/bio.15.98.

- [20] RYONA I, HENION J. A book-type dried plasma spot card for automated flow-through elution coupled with online SPE-LC-MS/MS bioanalysis of opioids and stimulants in blood[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(22):11229-11237. DOI:10.1021/acs.analchem.6b03691.
- [21] HAUSER J, LENK G, ULLAH S, et al. An autonomous microfluidic device for generating volume-defined dried plasma spots[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(11): 7125-7130. DOI: 10.1021/acs.analchem.9b00204.
- [22] DENNIFF P, SPOONER N. Volumetric absorptive micro-sampling: a dried sample collection technique for quantitative bioanalysis[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(16):8489-8495. DOI: 10.1021/ac5022562.
- [23] SPOONER N, DENNIFF P, MICHIELSEN L, et al. A device for dried blood microsampling in quantitative bioanalysis: overcoming the issues associated blood hematocrit[J]. *Bioanalysis*, 2015, 7(6):653-659. DOI:10.4155/bio.14.310.
- [24] THIRY J, EVRARD B, NYS G, et al. Sampling only ten microliters of whole blood for the quantification of poorly soluble drugs: Itraconazole as case study[J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1479:161-168. DOI:10.1016/j.chroma.2016.12.009.
- [25] NYS G, GALLEZ A, KOK M G M, et al. Whole blood microsampling for the quantitation of estetrol without derivatization by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 140: 258-265. DOI:10.1016/j.jpba.2017.02.060.
- [26] KITA K, NORITAKE K, MANO Y. Application of a volumetric absorptive microsampling device to a pharmacokinetic study of tacrolimus in rats: comparison with wet blood and plasma [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(1):91-102. DOI: 10.1007/s13318-018-0493-7.
- [27] DENNIFF P, PARRY S, DOPSON W, et al. Quantitative bioanalysis of paracetamol in rats using volumetric absorptive microsampling (VAMS)[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 108:61-69. DOI:10.1016/j.jpba.2015.01.052.
- [28] THIRY J, KOK M G M, COLLARD L, et al. Bioavailability enhancement of itraconazole-based solid dispersions produced by hot melt extrusion in the framework of the Three Rs rule[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2017, 99:1-8. DOI:10.1016/j.ejps.2016.12.001.
- [29] SPREADBROUGH M J, DAY J, JACKSON-ADDIE K, et al. Bioanalytical implementation of plasma capillary micro-sampling: small hurdles, large gains[J]. *Bioanalysis*, 2013, 5(12): 1485-1489. DOI:10.4155/bio.13.120.
- [30] VERHAEGHE T, DILLEN L, STIELTJES H, et al. The application of capillary microsampling in GLP toxicology studies[J]. *Bioanalysis*, 2017, 9(7):531-540. DOI:10.4155/bio-2016-0297.
- [31] VERHAEGHE T, DILLEN L, STIELTJES H, et al. Comparison of toxicokinetic parameters of a drug and two metabolites following traditional and capillary microsampling in rat[J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(13):1233-1242. DOI:10.4155/bio-2019-0085.
- [32] JONSSON O, PALMA VILLAR R, NILSSON L B, et al. Capillary microsampling of 25 μ l blood for the determination of toxicokinetic parameters in regulatory studies in animals[J]. *Bioanalysis*, 2012, 4(6):661-674. DOI:10.4155/bio.12.25.
- [33] DILLEN L, LOOMANS T, VAN DE PERRE G, et al. Blood microsampling using capillaries for drug-exposure determination in early preclinical studies: a beneficial strategy to reduce blood sample volumes[J]. *Bioanalysis*, 2014, 6(3):293-306. DOI:10.4155/bio.13.286.
- [34] WANG B, WANG L N, BATOG A, et al. Investigation on the effect of capillary microsampling on hematologic and toxicokinetic evaluation in regulatory safety studies in mice [J]. *AAPS J*, 2020, 22(2):55. DOI:10.1208/s12248-020-00438-z.
- [35] RAJE A A, MAHAJAN V, PATHADE V V, et al. Capillary microsampling in mice: effective way to move from sparse sampling to serial sampling in pharmacokinetics profiling[J]. *Xenobiotica*, 2020, 50(6): 663-669. DOI: 10.1080/00498254.2019.1683259.
- [36] ZHU L, WANG Y, JOYCE A, et al. Fit-for-purpose validation of a ligand binding assay for toxicokinetic study using mouse serial sampling[J]. *Pharm Res*, 2019, 36(12):169. DOI:10.1007/s11095-019-2699-z.
- [37] BOWEN C L, LICEA-PEREZ H, KARLINSEY M Z, et al. A novel approach to capillary plasma microsampling for quantitative bioanalysis[J]. *Bioanalysis*, 2013, 5(9): 1131-1135. DOI:10.4155/bio.13.58.
- [38] POWLES-GLOVER N, KIRK S, WILKINSON C, et al. Assessment of toxicological effects of blood microsampling in the vehicle dosed adult rat[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 68(3):325-331. DOI:10.1016/j.yrtph.2014.01.001.
- [39] BURNETT J E. Dried blood spot sampling: practical considerations and recommendation for use with preclinical studies [J]. *Bioanalysis*, 2011, 3(10):1099-1107. DOI:10.4155/bio.11.68.
- [40] DIEHL K H, HULL R, MORTON D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes[J]. *J Appl Toxicol*, 2001, 21(1):15-23. DOI:10.1002/jat.727.
- [41] SPARROW S S, ROBINSON S, BOLAM S, et al. Opportunities to minimise animal use in pharmaceutical regulatory general toxicology: a cross-company review[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2011, 61(2):222-229. DOI:10.1016/j.yrtph.2011.08.001.
- [42] HOPPER L D. Automated microsampling technologies and enhancements in the 3Rs[J]. *ILAR J*, 2016, 57(2):166-177. DOI: 10.1093/ilar/ilw020.
- [43] POWLES-GLOVER N, KIRK S, JARDINE L, et al. Assessment of haematological and clinical pathology effects of blood microsampling in suckling and weaned juvenile rats[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 69(3): 425-433. DOI: 10.1016/j.yrtph.2014.05.006.
- [44] NIU X Y, BEEKHUIJZEN M, SCHOONEN W, et al. Effects of capillary microsampling on toxicological endpoints in juvenile rats[J]. *Toxicol Sci*, 2016, 154(1): 69-77. DOI:10.1093/toxsci/kfw146.
- [45] MITCHARD T, KIRK S, GRANT C, et al. Investigation into the effect of microsampling on mouse fetuses and pregnant mice in the embryofetal development study design[J]. *Reprod Toxicol*, 2017, 67:140-145. DOI:10.1016/j.reprotox.2016.12.006.

- [46] PENG S X, ROCKAFELLOW B A, SKEDZIELEWSKI T M, et al. Improved pharmacokinetic and bioavailability support of drug discovery using serial blood sampling in mice[J]. J Pharm Sci, 2009, 98(5):1877-1884. DOI:10.1002/jps.21533.
- [47] JOYCE A P, WANG M M, LAWRENCE-HENDERSON R, et al. One mouse, one pharmacokinetic profile: quantitative whole blood serial sampling for biotherapeutics[J]. Pharm Res, 2014, 31(7):1823-1833. DOI:10.1007/s11095-013-1286-y.
- [48] KORFMACHER W, FITZGERALD M, LUO Y Y, et al. Capillary microsampling of whole blood for mouse PK studies: an easy route to serial blood sampling[J]. Bioanalysis, 2015, 7(4):449-461. DOI:10.4155/bio.14.275.
- [49] PATEL N J, WICKREMSINHE E, HUI Y H, et al. Evaluation and optimization of blood micro-sampling methods: serial sampling in a cross-over design from an individual mouse[J]. J Pharm Pharm Sci, 2016, 19(4):496-510. DOI:10.18433/J3NK60.
- [50] WAN K X, REIMER M T, METCHKAROVA M P, et al. Toxicokinetic evaluation of atrasentan in mice utilizing serial microsampling: validation and sample analysis in GLP study [J]. Bioanalysis, 2012, 4(11):1351-1361. DOI:10.4155/bio.12.91.
- [51] SPOONER N, ANDERSON K D, SIPLE J, et al. Microsampling: considerations for its use in pharmaceutical drug discovery and development[J]. Bioanalysis, 2019, 11(10):1015-1038. DOI: 10.4155/bio-2019-0041.
- [52] CARON A, LELONG C, BARTELS T, et al. Clinical and anatomic pathology effects of serial blood sampling in rat toxicology studies, using conventional or microsampling methods[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2015, 72(3): 429-439. DOI:10.1016/j.yrtph.2015.05.022.
- [53] HATTORI N, TAKUMI A, SAITO K, et al. Effects of serial cervical or tail blood sampling on toxicity and toxicokinetic evaluation in rats[J]. J Toxicol Sci, 2020, 45(10):599-609. DOI: 10.2131/jts.45.599.
- (收稿日期:2021-10-25 修回日期:2021-11-25)
(本文编辑:张俊彦,富群华,任益凡)

《实验动物与比较医学》被美国乌利希国际期刊指南 (Ulrichsweb) 收录

2022年8月,《实验动物与比较医学》(*Laboratory Animal and Comparative Medicine*) (ISSN 1671-5817, CN 31-1954/Q) 被美国乌利希国际期刊指南 (Ulrichsweb Global Serials Directory) 收录,标志着本刊在学术论文水平和期刊标准化、规范化方面得到了国际认可,对今后进一步提升期刊学术水平、扩大国际显示度及影响力具有积极的作用。

乌利希国际期刊指南是国际权威期刊书目数据库,由美国著名的书目文献出版公司 R. R. Bowker 于 1932 年创办,原称为“期刊指南”(Periodicals Directory),1943 年以纽约公共图书馆期刊部门负责人卡罗琳·乌尔里希 (Carolyn Ulrich) 的名字命名,现隶属于国际著名信息服务商 ProQuest 公司。它是一部可反映世界各国期刊和报纸出版信息的综合性指南,目前已收录 200 多个国家的 30 多万种期刊,涉及学科 950 余个,是目前世界上规模最大、搜罗最全的国际期刊检索工具之一。乌利希数据库的官方网址为 <http://ulrichsweb.serialssolutions.com/>。

《实验动物与比较医学》创刊于 1981 年,是国内实验动物科技领域的第一本专业性学术期刊,刊登国内外实验动物和比较医学领域科技研究及应用的新成果、新进展和新信息,内容主要涉及人类疾病动物模型、动物实验技术与方法、实验动物资源开发与管理、动物生物学、实验动物医学、人类与动物比较医学等。衷心感谢广大作者、读者、审者及编者对本刊的热情关注和大力支持,诚挚欢迎国内外实验动物与比较医学专家、学者、科研人员、硕博硕士研究生等继续向本刊投递高质量稿件,为《实验动物与比较医学》向更高水平、更高质量发展共同努力!

《实验动物与比较医学》编辑部