

干血点采样技术及其在药动学研究中的应用

刘 勇^{1,2}, 魏广力¹, 夏媛媛¹, 肖淑华¹, 司端运^{1*}

1. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

2. 河南大学 药学院, 河南 开封 475000

摘 要: 干血点采样 (dried blood spot, DBS), 即将全血样品收集在卡纸上, 在血样采集方法上比传统方法有一定的优势。它需求较少的血量, 可减少动物使用, 方便血样采集、存储运输, 简化样品前处理。到目前为止, DBS 与 LC-MS/MS 技术联用在小分子定量分析中已成为一个重要的方法, 将在药动学研究中得到越来越多的应用。概述 DBS 样品收集, 储存、前处理以及分析方法。

关键词: 干血点采样; LC-MS/MS; 药动学

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2011)05-0374-06

Application of dried blood spot technology in pharmacokinetic studies

LIU Yong^{1,2}, WEI Guang-li¹, XIA Yuan-yuan¹, XIAO Shu-hua¹, SI Duan-yun¹

1. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. College of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475000, China

Abstract: The collection of whole blood samples on paperboard, known as dried blood spot (DBS), offers a number of advantages over conventional blood sampling. DBS requires a smaller blood volume and reduces the number of laboratory animals. It simplified sample collection, storage, shipment, and processing. To date, DBS-LC-MS/MS has emerged as an important method for quantitative analysis of small molecule drugs. It will get more and more applications in pharmacokinetic studies. This paper summarizes the collection, storage, pretreatment, and analysis for DBS samples.

Key words: dried blood spot (DBS); LC-MS/MS; pharmacokinetics

进行药动学研究通常需要从生物体采集大量的全血 (临床前试验每个时间点通常采集 100~500 μL , 临床试验 1~5 mL) 以获得足够的血浆用于生物定量分析。在临床前试验中, 每只动物只能获得一定体积的全血, 如果用血量大, 则需要将多只动物的血样混合, 这往往导致药动学数据的可靠性下降, 而且对动物的需求量增加。另外, 血浆的处理要使用固相萃取、液液萃取或者蛋白沉淀等方法, 这些步骤耗时耗力, 限制了检测通量和样品检测数量。最后, 血样的运输和储存也存在实质上的困难, 运输以及储存过程需要冻存并妥善处理。

干血点 (dried blood spot, DBS) 采样法, 作为一种采集生物样品的新型替代技术, 克服了传统方法的诸多缺点, 并很大程度上节省了研究经费^[1]。目前 DBS 法已广泛应用在新生儿筛查、治疗药物监

测等领域中^[2-12]。随着 LC-MS/MS 技术对分析灵敏度和重现性的不断提高, 使用 LC-MS/MS 用于 DBS 样品的定量分析, 将为临床前药动学研究提供可靠的技术支持。尽管 DBS 在临床前毒动学、药动学以及药物筛选研究中的应用鲜有报道, 但是这项技术越来越受到制药工业界的关注和认可。DBS 法采血量小 (通常小于 100 μL), 因此特别适合小动物的连续样品采集。目前, 葛兰素史克公司正在药物研发阶段积极开展 DBS 采样技术, 将其应用于口服小分子化合物的新药筛选当中。本文从 DBS 样品采集、干燥、储存和运输、前处理以及分析方法等方面进行综述, 为 DBS 的进一步应用提供参考。

1 DBS 样品采集方法

1.1 DBS 采样卡

FTA 和 FTA Elute 卡由 Whatman 公司生产制造,

收稿日期: 2011-06-20

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2010CB735602)

*通讯作者 司端运, 研究员。E-mail: ddysi@sohu.com

网络出版时间: 2011-09-07 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1409.R.20110907.1443.001.html>

用于核酸分析等研究。两种卡通过适宜的化学试剂处理后,具备溶解细胞,使蛋白变性,并且抑制细菌等其他微生物生长的功能。FTA 和 FTA Elute 卡,可以用于 DBS 采样。最近,已有文章报道了在临床前和临床试验中,将 DBS 与 LC-MS/MS 结合用于小分子药物及其代谢物的定量分析研究^[13-14]。

1.2 DBS 样品采集过程及影响因素

在临床前研究中,小动物(如小鼠、大鼠)可以从尾部采血。血样可直接滴到采样卡的圆圈内,应避免直接接触到卡纸,尤其是在采样前和血样未干燥前。还应避免凝血、分层以及过饱和等情况的发生。血样应均匀分布在圆圈内,采样卡两侧血样的颜色应保持一致。如果样品被污染,出现溶血现象或者采样体积不够,均为不合格的采样。也可以使用加样枪将血样点到采样卡上,这样可避免潜在的血细胞比容差异、采血量的影响、血样在采样卡上分布不均匀等采样错误。加样枪头应距离采样卡若干毫米,当血样碰触到卡时会迅速分散开,使血样在卡上分布均匀^[15-17]。

另外,为保证分析的精密度和准确度,还应该考察不同的点样工具、点样温度、点样体积的影响。(1)点样工具 由于分析物的化学性质不同,分析物对不同介质(塑料或者玻璃)的吸附程度不同,应选择不同的点样工具,比如加样枪或者内壁浸泡乙二胺四乙酸(EDTA)或肝素钠等抗凝剂的毛细管。(2)点样温度 为考察点样温度对准确度和精密度的影响,质控全血在不同温度下(室温、37℃、0℃)放置 30 min 后进行点样,并随行标准曲线测定质控 DBS 样品的浓度,考察点样温度对测试结果的影响。(3)点样体积 为考察全血点样体积对准确度和精密度的影响,选择 3 种点样体积进行点样,并通过打孔得到相同大小的滤纸片,处理后进行样品分析,随行标准曲线测定其浓度。考察点样体积对测试结果的影响^[18-21]。

2 DBS 样品干燥、储存和运输方法

2.1 DBS 样品的稳定性评价

DBS 法对不稳定样品的保存与一般的样品处理方法相比具有一定优势。大多数的 DBS 样品可以在室温条件下保存,但是对于不稳定的分析物,低温可以延长保存时间。如酰基肉碱在 DBS 卡上储存在室温条件超过 2 周会出现因为水解作用而不稳定的情况,但是储存在 -18℃ 条件下可至少在 330 d 内保持稳定^[17-23]。

如果不进行分析物的稳定性试验(覆盖样品采集到分析过程),仅仅开展样品的重复分析测定不能评价分析物的稳定性。一般而言,分析物在 DBS 上的稳定性需要考察一种或几种储存条件(-60℃、-15℃、2~8℃、18~22℃):(1)比较不同储存周期的 QC 样品(低、中、高 3 个浓度,一式 3 份)的测量值与标示值的差异;(2)比较真实样品第一次测量值与经过不同储存周期后的测量值。前者称为 QC 样品稳定性,后者称为真实样品稳定性。QC 样品稳定性的差异应不超过标示值的±15%。对于真实样品的稳定性,每一种储存条件至少选择 20 个样品进行重复分析,不选择低于定量下限或者小于 3 倍定量下限浓度的样品。重复测定的结果与两次测定的平均值的比值应在 80%~120%,并且至少 2/3 的样品符合上述标准。真实样品稳定性的结果不仅阐明了目标化合物(包括氨基或酯化的化合物)的稳定性情况,还揭示了可能由水解或降解导致的转化。任何明显的浓度下降意味着目标化合物的不稳定,而目标化合物的浓度显著增加可能由代谢物转化或者共轭分子水解引起^[18-29]。

另外,有必要将 QC 样品放置在高温条件下(30~40℃、40~50℃或 50~70℃)或者冻融 3 次进行稳定性试验,用来模拟样品运输过程的极端条件或者样品储存在低温环境的情况。上述 QC 样品的测定要随行标准曲线和普通 QC 样品,一式 3 份,并且偏差应在标示值的±15%,这样才能说明 DBS 样品在高温或者冻融条件下是稳定的^[19-28]。

有些化合物易发生酶降解,这种过程可能发生在干燥阶段或者在点样之前,但酶抑制剂又不方便在点样前添加,因此必须对没有经过任何处理的分析物在全血中 2~3 h 的稳定性进行考察,以覆盖血样采集和干燥过程。如果试验结果显示样品不稳定,那么该化合物不适合 DBS 点样^[19]。

增加 DBS 样品的稳定性可采取以下措施:(1)控制温度 降低温度通常有助于小分子化合物的稳定。当温度由 22℃ 降至 0℃ 时,降解反应(氧化或者水解作用等)的速率会降低为 1/10。(2)保持干燥 DBS 样品中存留的水分是化合物发生酶解或化学水解的关键因素,将 DBS 卡充分干燥、更换干燥剂,或者放置在干燥器内,这几种方式相结合可以减少水分。(3)改善卡的化学性质 化学处理过的 DBS 卡具有溶解细胞,使蛋白变性,抑制细菌和微生物生长等特性,有助于提高不稳定化合物的

稳定性。研究显示一种对酯酶不稳定的化合物的 QC 样品（低、中、高 3 个浓度）在干燥阶段质量分数降低了 50%，而加入了酶抑制剂后 QC 样品在全血中的质量分数降低小于 15%，说明 DBS 卡的化学性质可以进一步改善^[14-29]。

2.2 DBS 样品的干燥、储存和运输

在储存和运输前将 DBS 样品充分干燥是十分重要的。一般而言，在室温开放环境（15~22 ℃）下，干燥时间至少为 2~3 h。干燥时间取决于采样卡的类型以及采血量的多少。样品不应该加热、重叠放置或者接触其他表面，需要的话应避免阳光直射。潮湿可能引起细菌生长，改变提取效率或者促进不稳定分析物的降解，从而导致血样的分析质量下降。因此在干燥之后，为避免 DBS 样品接触水分或湿气，可用纸覆盖 DBS 样品并装进含有干燥剂的封口袋里，另外，包装袋内应含有湿度指示剂。通过这种方式包装的 DBS 样品可在室温下储存数周至数年。如果样品含有不稳定的化合物，则应储存在低温环境（2~8 ℃、≤-15 ℃或≤-60 ℃）。按照上述方法包装的 DBS 样品可通过邮寄方式运输，在此期间不需考虑血样暴露或者传染性物质等问题^[17-22]。

3 DBS 样品前处理方法

3.1 打孔位置的选择

为考察全血在 DBS 卡上的分布情况，根据干血点的直径大小，选择中心及边缘位置打孔得到相同尺寸的滤纸片，处理后进行样品分析，随行标准曲线测定其浓度。研究表明，打孔位置会直接影响 DBS 样品定量分析的结果。如果点卡体积小而打孔面积大，那么所测结果的精密度会比较好；如果点卡体积大而打孔面积小，那么所测结果的精密度会比较差，原因可能是卡纸成分的干扰。唯一能精确地对待测物进行定量分析的方法为点卡体积完全相同，从卡上取下所有的血点^[14-20]。

3.2 离线提取

在定量分析中，从 DBS 卡上打下一个或多个一定直径的圆片放入分析试管或 96 孔微量滴定盘中进行提取。提取时通常加入一定量的含有内标的提取溶剂（甲醇、乙腈或者一定比例的水-有机溶剂混合物）。选择合适的提取溶剂破坏基质或滤纸里分析物与蛋白的结合，并通过振荡或者涡旋等方式将分析物洗脱下来，涡旋时间一般为 20~60 s，必要时也可采用超声处理来提高提取效率。离心之后，提取物手动或自动转移到试管或微量滴定盘中直接进

样，或者吹干后用流动相复溶进样^[14-19]。

3.3 在线提取

最近有报道关于 DBS 样品的在线提取方法。该方法基于“inox cell”结构，可以将滤纸片上的分析物洗脱下来，随即导入 LC-MS 系统，从滤纸上释放的分析物通过色谱分离后进入质谱检测^[26]。

4 DBS 样品分析方法

DBS 样品的分析方法与普通生物样品的分析方法类似，应根据化合物的性质，选择特异性好、灵敏度高的测定方法。色谱-质谱联用法（如 LC-MS、LC-MS/MS、GC-MS、GC-MS/MS 方法）在特异性、灵敏度和分析速度等方面更有优势。

DBS 样品的分析方法学确证与普通生物样品一样需要通过标准曲线、准确度、精密度、特异性、灵敏度、重现性、稳定性、基质效应、稀释效应等研究来建立并确证。在检测过程中应进行方法学质控，制备随行标准曲线并对质控样品进行测定，以确保检测方法的可靠性。

4.1 特异性和灵敏度

与传统的血浆分析类似，DBS 法要保证所测定的物质是预期的分析物，内源性物质和其他代谢物不得干扰样品的测定。考察 6 个不同个体空白全血点样并处理后的空白生物样品色谱图、空白生物样品外加对照物质色谱图（注明浓度）及用药后的生物样品色谱图。对于以液质联用（LC-MS、LC-MS/MS）为基础的检测方法，要注意考察分析过程中的介质效应，如离子抑制等。

用 LC-MS/MS 检测待测物最低定量限的响应值（至少 5 个样本）要比空白血的响应值高 5 倍以上，即待测物最低定量限的干扰峰要低于最低定量限的响应值的 20%，且最低定量限的精确度和精密度要在 20% 以内。由于打孔出来的样品体积有限，为了提高待测物的最低定量限可以打尺寸大些的孔或者收集多个孔的样品^[17-27]。

4.2 标准曲线

全血标准曲线配制 DBS 采用全血点样，因此标准曲线应使用全血配制。在配制标准曲线时，若有机相的加入量多，会出现蛋白沉淀，势必会影响全血中的活性酶等成分。因此配制工作液时应考虑到分析物在水相中的溶解度，若分析物在水中溶解度高，则在逐级稀释过程中向有机相加入一定比例的水相，可以减少有机相对全血含有的活性酶等蛋白质的破坏。若分析物在水相中溶解度很小，则要

尽量减少有机相的加入量。同时,加入血样中的工作液体积应该尽量少(一般 $<5\%$ 总体积)。另外,为保证分析的准确性,全血标准曲线应在每个分析日当天配制^[17]。

标准曲线建立 用至少6个浓度建立标准曲线,定量范围要能覆盖全部待测浓度,不允许将定量范围外推算未知样品的浓度。建立标准曲线时应随行空白生物样品。

4.3 精密度与准确度

选择3个浓度的质控样品同时进行方法的精密度和准确度考察。低浓度选择在定量下限附近,其浓度在定量下限的3倍以内;高浓度接近于标准曲线的上限;中间选择一个浓度。每一浓度每批至少测定5个样品,为获得批间精密度,应至少连续3个分析批合格。精密度用质控样品的批内和批间相对标准差(RSD)表示,RSD一般应小于15%,在定量下限附近RSD应小于20%。准确度一般应在85%~115%,在定量下限附近应在80%~120%^[15-18]。

4.4 定量下限

定量下限是标准曲线上的最低浓度点,要求至少能满足测定3~5个半衰期时样品中的药物浓度,或 $C_{\max}$ 的 $1/10\sim 1/20$ 时的药物浓度,其准确度应在真实浓度的80%~120%,RSD应小于20%。应由至少5个标准样品测试结果证明。

4.5 稀释效应

对于超过定量上限的血样要进行稀释效应的测定。一般样品可以用空白基质来稀释,但对DBS样品要制备稀释液,即将空白全血点样干燥后,按样品处理方法处理,得到的空白提取液为稀释液。6份稀释样品和标准曲线一起测定,结果精密度要 $\leq 15\%$,准确度在 $\pm 15\%$ ^[14-23]。

4.6 样品稳定性

根据DBS的采样情况,应对分析物(以及代谢物)在室温下不同介质以及不同存放时间进行稳定性考察,以确定DBS的存放条件和时间。具体的稳定性试验应包括储备液的稳定性、样品处理后的溶液中分析物的稳定性、分析物在全血中的稳定性、含药全血点样后室温放置的稳定性、含代谢物全血点样后室温放置的稳定性等^[14-25]。

4.7 基质效应和回收率

基质效应定义为样品或介质中存在干扰物质,对响应造成的直接或间接的影响。在以液质联用为

基础的分析方法中,基质效应是影响方法灵敏度以及重现性的关键因素,因此样品处理过程要尽可能除去干扰物质。基质效应的计算方法定义为6个不同个体的空白全血DBS样品提取后加入标准品的峰面积与相应浓度标准品峰面积的比值,比值应尽量在 $\pm 15\%$,并且 $RSD < 15\%$ 。

回收率即样品处理过程的提取效率,以样品处理过程前后分析物质量分数表示。DBS法应考察高、中、低3个浓度的提取回收率,其结果应精密、可重现。

进行基质效应和回收率研究要准备3组样品:(A)DBS质控样品(低、中、高3个浓度,每个浓度至少3个样品)。将标准品加入空白全血中,制成质控样品并以一定体积点样,待干燥后,打孔,用含有内标的提取液提取,涡旋离心后进样;(B)空白全血DBS样品在提取后加入与A等浓度的标准品和内标进样;(C)与A、B等浓度的标准品和内标直接进样。3组样品在同一条件下进行LC-MS/MS分析,基质效应为B组的响应值/C组的响应值;回收率为A组的响应值/B组的响应值^[14-25]。

5 结语

相较于传统的血浆采集方法,在药动学研究中使用DBS采集全血样品具备了一定优势。DBS的采血量少,特别适合小动物的血样采集;使用DBS采集全血的预处理简单(无需冷冻离心分离血浆),全血在滤纸片上吸收迅速(10s内吸收),便于储存(保存在封口塑胶袋内室温干燥放置);DBS样品可通过普通的邮政系统运输(无需冰箱或者干冰);DBS样品前处理简单,使用适宜的溶剂(水或其他溶剂),分析物易于从滤纸片上洗脱下来。

但是作为一种新方法,DBS法尚存在以下不足。测定结果的准确性可能受点样条件(工具、温度、体积)影响;样品量少,灵敏度不高;不适用于不稳定的药物(如易于氧化、酶解的药物)。

虽然DBS技术还处在开发期,有待完善,但其较一般样品采集及处理方法显示出的优点使其在药动学研究的应用范围越来越广泛。现在国际大型制药公司对DBS的技术已经产生了极大兴趣,2010年6月17—18日在布鲁塞尔举行的欧洲生物分析论坛上,题为“干血点连接策略”的研讨会吸引了来自世界各地的制药公司的专业人士参加,包括葛兰素史克、辉瑞、诺华、科文斯、赛诺菲安万特等的研究人员。如果DBS技术更加完善,其处理分析过

程更加简化,那么它将在药动学研究中起到重要作用^[30]。

参考文献

- [1] Li W, Tse F L. Dried blood spot sampling in combination with LC-MS/MS for quantitative analysis of small molecules [J]. *Biomed Chromatogr*, 2010, 24(1): 49-65.
- [2] Janzen N, Peter M, Sander S, *et al.* Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia: Additional steroid profile using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(7): 2581-2589.
- [3] Lacey J M, Minutti C Z, Magera M J, *et al.* Improved specificity of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia by second-tier steroid profiling using tandem mass spectrometry [J]. *Clin Chem*, 2004, 50(3): 621-625.
- [4] la Marca G, Malvagia S, Pasquini E, *et al.* The inclusion of succinylacetone as marker for tyrosinemia type I in expanded newborn screening programs [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(6): 812-818.
- [5] McCann S J, Gillingwater S, Keevil B G, *et al.* Measurement of total homocysteine in plasma and blood spots using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Comparison with the plasma Abbott IMx method [J]. *Ann Clin Biochem*, 2003, 40(Pt 2): 161-165.
- [6] Oglesbee D, Sanders K A, Lacey J M, *et al.* Second-tier test for quantification of alloisoleucine and branched-chain amino acids in dried blood spots to improve newborn screening for maple syrup urine disease (MSUD) [J]. *Clin Chem*, 2008, 54(3): 542-549.
- [7] Zoppa M, Gallo L, Zacchello F, *et al.* Method for the quantification of underivatized amino acids on dry blood spots from newborn screening by HPLC-ESI-MS/MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 831(1-2): 267-273.
- [8] Burhenne J, Riedel K D, Rengelshausen J, *et al.* Quantification of cationic anti-malaria agent methylene blue in different human biological matrices using cation exchange chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2008, 863(2): 273-282.
- [9] la Marca G, Malvagia S, Filippi L, *et al.* A new rapid micromethod for the assay of phenobarbital from dried blood spots by LC-tandem mass spectrometry [J]. *Epilepsia*, 2009, 50(12): 2658-2662.
- [10] Cheung C Y, van der Heijden J, Hoogtanders K, *et al.* Dried blood spot measurement: Application in tacrolimus monitoring using limited sampling strategy and abbreviated AUC estimation [J]. *Transpl Int*, 2008, 21(2): 140-145.
- [11] la Marca G, Malvagia S, Filippi L, *et al.* Rapid assay of topiramate in dried blood spots by a new liquid chromatography-tandem mass spectrometric method [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48(5): 1392-1396.
- [12] Henderson L O, Powell M K, Hannon W H, *et al.* An evaluation of the use of dried blood spots from newborn screening for monitoring the prevalence of cocaine use among childbearing women [J]. *Biochem Mol Med*, 1997, 61(2): 143-151.
- [13] 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.
- [14] Spooner N, Lad R, Barfield M. Dried blood spots as a sample collection technique for the determination of pharmacokinetics in clinical studies: Considerations for the validation of a quantitative bioanalytical method [J]. *Analyt Chem*, 2009, 81(4): 1557-1563.
- [15] 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.
- [16] Alfazil A A, Anderson R A. Stability of benzodiazepines and cocaine in blood spots stored on filter paper [J]. *J Analyt Toxicol*, 2008, 32(7): 511-515.
- [17] Edelbroek P M, van der Heijden J, Stolk L M. Dried blood spot methods in therapeutic drug monitoring: Methods, assays, and pitfalls [J]. *Ther Drug Monit*, 2009, 31(3): 327-336.
- [18] Liang X, Li Y, Barfield M, *et al.* Study of dried blood spots technique for the determination of dextromethorphan and its metabolite dextrorphan in human whole blood by LC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(8/9): 799-806.
- [19] Damen C W, Rosing H, Schellens J H, *et al.* Application of dried blood spots combined with high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry for simultaneous quantification of vincristine and actinomycin-D [J]. *Analyt Bioanal Chem*, 2009, 394(4): 1171-1182.
- [20] Holub M, Tuschl K, Ratschmann R, *et al.* Influence of hematocrit and localisation of punch in dried blood spots on levels of amino acids and acylcarnitines measured by tandem mass spectrometry [J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 373(1-2): 27-31.
- [21] Koal T, Burhenne H, Roling R, *et al.* Quantification of antiretroviral drugs in dried blood spot samples by means

- of liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2005, 19(21): 2995-3001.
- [22] Garcia Boy R, Henseler J, Mattern R, *et al.* Determination of morphine and 6-acetylmorphine in blood with use of dried blood spots [J]. *Ther Drug Monit*, 2008, 30(6): 733-739.
- [23] Fingerhut R, Ensenauer R, Rochinger W, *et al.* Stability of acylcarnitines and free carnitine in dried blood samples: Implications for retrospective diagnosis of inborn errors of metabolism and neonatal screening for carnitine transporter deficiency [J]. *Analyt Chem*, 2009, 81(9): 3571-3575.
- [24] Wilhelm A J, den Burger J C, Vos R M, *et al.* Analysis of cyclosporin A in dried blood spots using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(14-15): 1595-1598.
- [25] Schulze A, Schmidt C, Kohlmüller D, *et al.* Accurate measurement of free carnitine in dried blood spots by isotope-dilution electrospray tandem mass spectrometry without butylation [J]. *Clin Chim Acta*, 2003, 335(1/2): 137-145.
- [26] Déglon J, Thomas A, Cataldo A, *et al.* On-line desorption of dried blood spot: A novel approach for the direct LC/MS analysis of micro-whole blood samples [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(4): 1034-1039.
- [27] Hoogtanders K, van der Heijden J, Christiaans M, *et al.* Therapeutic drug monitoring of tacrolimus with the dried blood spot method [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44(3): 658-664.
- [28] van der Heijden J, de Beer Y, Hoogtanders K, *et al.* Therapeutic drug monitoring of everolimus using the dried blood spot method in combination with liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50(4): 664-670.
- [29] Strnadová K A, Holub M, Mühl A, *et al.* Long-term stability of amino acids and acylcarnitines in dried blood spots [J]. *Clin Chem*, 2007, 53(4): 717-722.
- [30] Majors R E. New directions in whole blood analysis: Dried blood spot analysis and beyond [EB/OL]. (2011-1-1) [2011-6-12]. <http://chromatographyonline.findanalyticchem.com/lcgc/article/articleDetail.jsp?id=706364>.

《中国现代应用药学》2012 年征订启事

《中国现代应用药学》创刊于 1984 年, 是由中国药学会主办, 中国科协主管, 国内外公开发行的国家级综合性药学科技期刊。本刊为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》药学类核心期刊(全国中文核心期刊), 中国科学引文数据库入选期刊, 并被美国《化学文摘》、《剑桥科学文摘(自然科学)》、《国际药学文摘》、《乌利希期刊指南》、《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》等国际重要检索系统收录。

《中国现代应用药学》栏目涵盖面广, 设有论著、综述、专栏, 专栏包括药理、中药与天然药、药物化学、药剂、药物分析与检验、医院药学、临床、不良反应、药事管理等。本刊能全方位多角度地反映国内药学领域的最新进展, 是国内广大医药工作者发表科研成果、交流信息、更新知识的重要学术平台, 也是发布药品及相关领域产品广告的重点专业期刊媒体。

本刊为月刊, 每月 28 日出刊, 大 16 开本, 铜版纸精美印刷, 每期订价 30.00 元, 全年 360.00 元, 国内统一刊号: CN 33-1210/R, 国际标准出版物编号: ISSN 1007-7693, 邮发代号: 32-67, 国外发行: 中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱, 100044), 欢迎广大读者向本刊编辑部或当地邮局订阅。

编辑部地址: 杭州市中河中路 250 号改革月报大楼 10 楼, 邮编: 310003, 电话: 0571-87297398, 传真: 0571-87245809, E-mail: xdyd@chinajournal.net.cn, <http://www.chinajmap.com>。