

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A LC-MS/MS METHOD FOR QUANTIFICATION OF BILASTINE IN HUMAN PLASMA

NGO QUANG TRUNG¹, PHAM THI HIEN^{1,✉}

¹Hanoi University of Pharmacy

✉Corresponding author: phamhien@hup.edu.vn

Received April 15th, 2023

Accepted June 09th, 2023

Abstract: A simple, specific and sensitive LC-MS/MS method has been developed for determination of bilastine in human plasma. The analyte and the internal standard (carbamazepine) were extracted from human plasma by the protein precipitation method with acetonitrile. Chromatographic analysis was developed on a C18 column (dimension 50 x 2.1 mm, particle 1.7 μ m) with isocratic elution at a flow rate of 0.2 ml/min using a mobile phase of water (10 mM ammonium formate + 0.1 % formic acid) and acetonitrile (10 mM ammonium formate + 0.1 % formic acid) with suitable ratio. The Waters Xevo TQ-XS UPLC-MS/MS was operated under the multi reaction-monitoring mode using the positive ion mode, with transitions at (m/z) 463.80 \rightarrow 271.72 for (BIL), 236.70 \rightarrow 164.70 for (IS). The method was validated over concentration range from 3 ng/ml to 600 ng/ml. The intra and inter-day precision and accuracy were within between 91.5 % and 105.7 %. This method can be used for BA-BE studies of bilastine preparations.

Keywords: bilastin, bioequivalence, huma plasma, LC-MS/MS

XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG BILASTIN TRONG HUYẾT TƯƠNG NGƯỜI BẰNG PHƯƠNG PHÁP LC-MS/MS

NGÔ QUANG TRUNG¹, PHẠM THỊ HIỀN^{1,✉}

¹Trường Đại học Dược Hà Nội

✉Tác giả liên hệ: phamhien@hup.edu.vn

Nhận bài ngày 15 tháng 4 năm 2023

Chấp nhận đăng ngày 09 tháng 6 năm 2023

Tóm tắt: Nghiên cứu này đã xây dựng được quy trình đơn giản, đặc hiệu và đủ độ nhạy để định lượng bilastin trong huyết tương bằng kỹ thuật LC-MS/MS. Trong đó, mẫu nghiên cứu gồm hỗn hợp chất phân tích và chất chuẩn nội (carbamazepin) đã được chiết từ huyết tương người bằng phương pháp kết tủa protein với acetonitril. Phương pháp sắc ký sử dụng cột C18 (50 x 2,1 mm, 1,7 μ m), rửa giải đẳng dòng với tốc độ 0,2 ml/phút bằng pha động gồm hệ hai dung môi (10 mM amoni format + 0,1 % acid formic) trong nước và (10 mM amoni format + 0,1 % acid formic) trong acetonitril được điều chỉnh ở tỷ lệ thích hợp. Thiết bị UPLC-MS/MS Waters Xevo TQ-XS được vận hành trong kiểu ion hóa dương sử dụng chế độ theo dõi đa phản ứng (MRM), với các tín hiệu 463,8 \rightarrow 271,72 cho bilastin và 236,7 \rightarrow 164,7 cho chuẩn nội. Quy trình phân tích được thẩm định trên dải nồng độ chất nghiên cứu từ 3 ng/ml đến 600 ng/ml. Độ lặp lại, độ chính xác trung gian đáp ứng yêu cầu và độ thu hồi đạt 91,5 % đến 105,7 %. Quy đã xây dựng là phù hợp cho việc nghiên cứu đánh giá tương đương sinh học của mẫu bilastin.

Từ khóa: bilastin, tương đương sinh học, huyết tương, LC-MS/MS

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bilastin ($C_{28}H_{37}N_3O_3$; KLPT 463,6 g/mol) là một thuốc kháng histamin sử dụng toàn thân, được sử dụng điều trị triệu chứng trong trường hợp viêm mũi dị ứng (quanh năm hoặc theo mùa) và mày đay. Ở liều khuyến nghị sử dụng (10-20 mg) [1], nồng độ tối đa của dược chất trong huyết tương người khoảng 120 -275 ng/ml [2], [3]. Do vậy, xác định nồng độ bilastin trong các mẫu huyết tương người bằng phương pháp sắc ký lỏng với detector thông thường là khó khả thi. Dựa vào trang thiết bị hiện có và tham khảo một số phương pháp nghiên cứu đã được công bố [2], [3], [4], chúng tôi tiến hành nghiên cứu xây dựng phương pháp định lượng bilastin trong huyết tương người bằng phương pháp LC-MS/MS nhằm đáp ứng nhu cầu đánh giá tương đương sinh học các chế phẩm chứa bilastin.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất, chất chuẩn

2.1.1. Thiết bị, dụng cụ phân tích

Tất cả các thiết bị được quản lý và hiệu chuẩn theo các quy định của ISO/IEC 17025 và GLP, bao gồm: Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector khối phổ hai lần Waters Xevo TQ-XS (Mỹ); Cân phân tích Mettler Toledo (Thụy Sĩ, độ chính xác $d = 0,01$ mg); Tủ lạnh sâu -86 °C (Haier - Trung Quốc); Máy ly tâm lạnh (Sigma 3-18K - Đức); Micropipet HTL; các thiết bị khác như: máy lắc cơ học; máy lọc nước siêu sạch...

Các dụng cụ: bình định mức, ống chiết thủy tinh, ống nghiệm eppendrf, pipet thủy tinh... đạt tiêu chuẩn loại A.

2.1.2. Dung môi, hóa chất

Acetonitril, methanol, nước tinh khiết loại dùng cho LCMS được cung cấp bởi Fisher – Mỹ, acid formic, amoni format loại dùng cho LCMS (Merck-Đức).

2.1.3. Chất chuẩn

Các chất chuẩn gồm bilastin (BIL) chuẩn đối chiếu của Viện Kiểm nghiệm Thuốc TW, SKS: C0122388, hàm lượng 99,3 % tính theo nguyên trạng và carbamazepin: chuẩn đối chiếu của Viện Kiểm nghiệm Thuốc TW, SKS: WS.0115318.01, hàm lượng 99,78 % tính theo nguyên trạng, được dùng làm chuẩn nội (IS) trong phương pháp phân tích.

2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu huyết tương (HT) trắng: không có BIL do Bệnh viện Trung ương quân đội 108 cung cấp. Từ huyết tương trắng chuẩn bị các mẫu huyết tương tự tạo chứa chuẩn BIL.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

Dựa trên các tài liệu tham khảo, tiến hành khảo sát các điều kiện sắc ký – khối phổ để lựa chọn điều kiện sắc ký – khối phổ tối ưu. Việc xây dựng quy trình xử lý mẫu còn dựa trên đặc tính của chất phân tích.

2.2.2.1. Điều kiện sắc ký

Quá trình sắc ký được thực hiện trên cột pha đảo C18 ($50 \times 2,1$ mm; $1,7$ μ m); nhiệt độ cột 40 °C, tốc độ dòng $0,2$ ml/phút, sử dụng pha động là hỗn hợp acetonitril – nước : 35-65 tt/tt (amoni format 10mM + acid formic 0,1 %), thể tích tiêm mẫu 2 μ l; nhiệt độ buồng tiêm mẫu: 40 °C; detector Xevo TQ-XS.

2.2.2.2. Điều kiện khối phổ

Kiểu khối phổ hai lần (MS/MS), nguồn ion hóa ESI (+). Các thông số của thiết bị khối phổ để phát hiện BIL và IS:

Thông số	Hoạt chất	
	Bilastin	Carbamazepin (IS)
Chế độ ion	+	+
Capillary voltage (kV)	3,0	3,0
Cone voltage (V)	15	15
Desolvation temperature (°C)	500	500
Desolvation gas (L/Hr)	950	950
Cone gas (L/Hr)	150	150
Collision energy (V)	36	39
Ion ban đầu (parent ion)	463,80	236,70
Ion tạo thành (product ion)	271,72	164,70

2.2.2.3. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Dung dịch chuẩn: chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc bilastin trong MeOH có nồng độ 600 μ g/ml. Từ dung dịch chuẩn gốc, chuẩn bị dung dịch chuẩn làm việc cho đường chuẩn và mẫu kiểm tra trong hỗn hợp methanol – nước tỷ lệ 1-1(tt/tt) có nồng độ BIL 12 μ g/ml và 600 ng/ml. Tiến hành chuẩn bị đường chuẩn có nồng độ lần lượt 3; 6; 12; 30; 60; 180; 360; 600 ng/ml và các mẫu kiểm tra LQC, SQC, MQC, HQC trong huyết tương có nồng độ lần lượt là 9; 72; 300; 480 ng/ml.

Dung dịch chuẩn nội (IS): Chuẩn bị dung dịch chuẩn nội gốc trong MeOH có nồng độ 500 μ g/ml. Từ dung dịch chuẩn gốc, chuẩn bị dung dịch chuẩn nội làm việc trong hỗn hợp methanol – nước tỷ lệ 1-1(tt/tt) có nồng độ 2 μ g/ml.

2.2.2.4. Phương pháp xử lý mẫu

Chiết, tách BIL trong mẫu huyết tương người bằng phương pháp tủa protein theo quy trình như sau: hút 0,5 ml huyết tương, thêm 50 μ l IS. Lắc xoáy 5 giây. Thêm 1,5 mL dung môi MeCN lắc xoáy 5s. Ly tâm 10000 vòng/phút trong 5 phút. Hút 0,5 ml lớp dịch trong. Tiêm sắc ký.

2.2.2.5. Phương pháp tính kết quả

Xác định nồng độ BIL có trong các mẫu thử chưa biết nồng độ dựa vào tỷ lệ diện tích pic BIL/ IS thu được từ sắc ký đồ của mẫu thử và đường chuẩn tương ứng phân tích trong cùng điều kiện.

2.2.3. Thẩm định phương pháp

Tiến hành thẩm định phương pháp theo hướng dẫn thẩm định phương pháp định lượng thuốc trong dịch sinh học của US-FDA [5].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xây dựng phương pháp phân tích

3.1.1. Tối ưu hóa điều kiện khối phổ

Do trong phân tử bilastin chứa nhóm amin nên chọn khảo sát điều kiện khối phổ ở chế độ ion hóa ESI (+). Đặt chế độ scan ở phần phân mảnh khối phổ 1 (MS) chọn được ion mẹ có $m/z = 463,80$. Sau đó, với ion mẹ đã xác định khảo sát các điều kiện tiếp theo gồm xác định ion con, thế thấu kính hội tụ và năng lượng bắn phá để thu được ion con đặc trưng, các điều kiện tối ưu cho quá trình phân mảnh được trình bày trong mục 2.2.2.2.

3.1.2. Tối ưu hóa điều kiện sắc ký

Sử dụng cột sắc ký Acquity UPLC® BEH C18 (50 x 2,1 mm; 1,7 μ m), tiến hành khảo sát với các các hệ pha động khác nhau MeOH-dung dịch acid formic, MeCN - dung dịch acid formic, MeCN-dung dịch amoni format, MeCN- dung dịch amoni format + acid formic với các tỷ lệ và nồng độ khác nhau. Kết quả thực nghiệm cho thấy sử dụng acetonitril – nước : 35-65 tt/tt (amoni format 10mM + acid formic 0,1 %) cho đáp ứng của BIL cao và ổn định nhất, hình dáng pic cân đối, thời gian phân tích hợp lý.

3.1.3. Lựa chọn chuẩn nội

Khảo sát một số chất có đặc tính hóa lý tương tự với bilastin để làm chuẩn nội của phương pháp gồm papaverin, carbamazepin, amlodipin. Sau khi tối ưu hóa các điều kiện khối phổ thì chọn được chuẩn nội phù hợp là carbamazepin.

3.1.4. Xác định giới hạn định lượng dưới và khoảng tuyến tính

Khoảng tuyến tính là khoảng nồng độ của chất phân tích từ giá trị thấp nhất (LLOQ) đến giá trị cao nhất (ULOQ). Các giá trị LLOQ và ULOQ của khoảng tuyến tính của phương pháp được xác định dựa trên các thông số dược động học của BIL. Ở mức liều sử dụng một viên nén 20 mg BIL có nồng độ tối đa (C_{max}) trong huyết tương người khoảng 275 ng/ml [3], ở liều sử dụng 10 mg BIL thì C_{max} có giá trị từ khoảng 120 ng/ml [2] đến 150 ng/ml [3]. Do đó, xác định giá trị ULOQ là 600 ng/ml khoảng 2 – 3 lần giá trị C_{max} . Qua các tài liệu tham khảo [2], [3], [4] và dựa trên đáp ứng của thiết bị phân tích đã xác định giá trị LLOQ của phương pháp đối với BIL là 3 ng/ml

3.1.5. Lựa chọn phương pháp xử lý mẫu

Xử lý mẫu huyết tương có 3 phương pháp chính là tủa protein, chiết lỏng - lỏng và chiết pha rắn. Phương pháp chiết pha rắn có giá thành cao, qui trình thực hiện phức tạp; phương pháp chiết lỏng-lỏng có thuận lợi hơn chiết pha rắn nhưng thường dùng các dung môi có tính độc hại (dichloromethan, cloroform...) và thêm giai đoạn bay hơi dung môi tăng thời gian xử lý mẫu. Phương pháp tủa protein có ưu điểm nhanh, đơn giản, tiết kiệm chi phí. Ngoài ra, trong nghiên cứu này ở nồng độ ULOQ qua khảo sát tín hiệu của BIL rất cao nằm ở vùng cực đại tín hiệu của detector nên mẫu cần được pha loãng trước khi đưa vào máy phân tích. Chính vì thế, phương pháp tủa protein được lựa chọn để xử lý mẫu huyết tương kết hợp pha loãng mẫu (4 lần) để thu được nồng độ thích hợp với thiết bị phân tích.

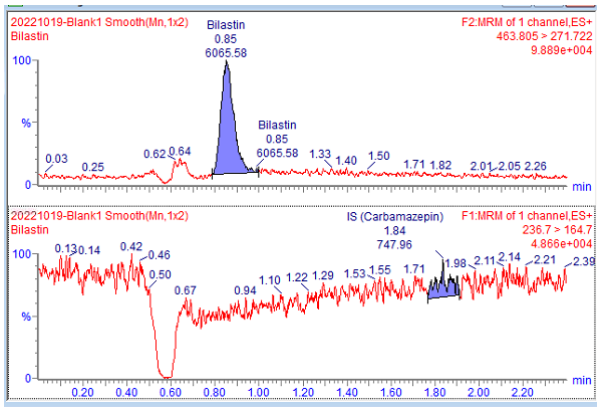
3.2. Thẩm định phương pháp phân tích

3.2.1. Độ đặc hiệu – chọn lọc của phương pháp

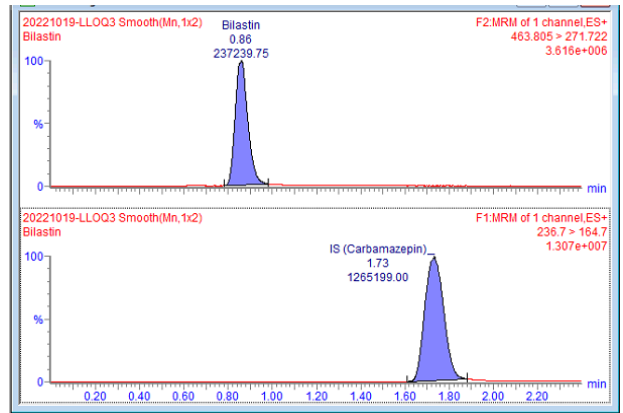
Phân tích 6 mẫu huyết tương (HT) trắng khác nhau và 6 mẫu HT tự tạo chứa IS và BIL nồng độ 3,0 ng/ml (mẫu LLOQ) theo phương pháp đã được xây dựng. Tại thời điểm 0,87 phút (tương ứng với thời gian lưu của BIL) đáp ứng pic của từng mẫu trắng không lớn hơn 20 % đáp ứng pic trung bình của mẫu LLOQ và tại 1,73 phút (tương ứng với thời gian lưu của IS) đáp ứng pic của từng mẫu trắng không lớn hơn 5 % đáp ứng trung bình của mẫu CC và QC. Kết quả thể hiện tại Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thẩm định độ chọn lọc – đặc hiệu của phương pháp

Mẫu	S _{pic} BIL	TB _{BIL} (LLOQ)	% BIL	S _{pic} IS	TB _{IS} (CC-QC)	% IS
Blank1	6066	233071	2,6	748	1183838	0,1
Blank2	4439	233071	1,9	856	1183838	0,1
Blank3	3619	233071	1,6	867	1183838	0,1
Blank4	2918	233071	1,3	586	1183838	0,0
Blank5	2060	233071	0,9	0	1183838	0,0
Blank6	2044	233071	0,9	327	1183838	0,0



Hình 1. Sắc ký đồ mẫu huyết tương trắng



Hình 2. Sắc ký đồ mẫu huyết tương tự tạo chứa chuẩn BIL(3 ng/ml) và chuẩn nội

Do vậy, phương pháp phân tích có độ đặc hiệu - chọn lọc với BIL và IS theo các quy định của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học [5]

3.2.2. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Phân tích 5 đường chuẩn riêng biệt trong huyết tương chứa BIL có nồng độ từ 3 ng/ml đến 600 ng/ml theo

phương pháp đã xây dựng. Xác định sự tương quan giữa nồng độ BIL có trong mẫu và tỷ lệ diện tích pic tương ứng BIL/IS bằng phương pháp hồi quy tuyến tính, sử dụng trọng số (1/nồng độ²). Kết quả xác định mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ và tỷ lệ diện tích pic được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thẩm định khoảng tuyến tính của phương pháp

Nồng độ (ng/ml)	Độ đúng (%)					
	Đường chuẩn 1	Đường chuẩn 2	Đường chuẩn 3	Đường chuẩn 4	Đường chuẩn 5	
2,97	97,2	97,7	100,7	93,2	94,8	
5,93	98,1	100,4	95,1	111,1	110,1	
11,87	110,3	103,8	103,3	102,6	99,7	
29,67	110,9	109,4	106,9	106,4	102,0	
59,34	105,8	105,5	105,5	102,1	101,7	
178,03	96,7	98,5	102,8	96,2	101,0	
356,05	92,4	96,7	94,0	97,2	98,2	
593,42	88,7	87,9	91,7	91,2	92,6	
Y = ax + b	a	0,059818	0,056334	0,056287	0,056654	0,063957
	b	0,060388	0,065726	0,072981	0,061591	0,045570
Hệ số r	0,9955	0,9971	0,9978	0,9969	0,9981	

Kết quả thẩm định cho thấy trong khoảng nồng độ đã xây dựng có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ BIL và tỷ lệ diện tích pic BIL/IS với hệ số tương quan $r > 0,99$. Nồng độ BIL xác định từ đường chuẩn so với giá trị thực nằm trong giới hạn cho phép (80 % - 120 % đối với nồng độ thấp nhất, 85 % - 115 % đối với các nồng độ còn lại) theo qui định của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học [5].

3.2.3. Giới hạn định lượng dưới của phương pháp

Phân tích các mẫu zero (mẫu HT chỉ chứa chuẩn nội) và mẫu HT chứa BIL với nồng độ tương ứng là 3 ng/ml (mẫu LLOQ) trên 3 lô mẫu, mỗi lô gồm 6 mẫu. Kết quả thẩm định giới hạn định lượng dưới của phương pháp được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định giá trị LLOQ

Mẫu Zero	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	34749		38328		16744	
STT	S_{pic}	Độ đúng (%)	S_{pic}	Độ đúng (%)	S_{pic}	Độ đúng (%)
1	267530	97,4	266136	99,0	226033	109,4
2	294820	103,8	258135	93,3	246750	113,4
3	282798	105,2	253053	88,7	223001	101,2
4	262665	99,4	273401	97,7	246612	111,6
5	297003	102,1	250637	88,7	223719	100,9
6	299205	101,4	253568	95,3	221030	97,9
TB	284004	101,5	259155	93,8	231191	105,7
CV%		2,8		4,7		6,2
Độ đúng (%) và CV (%) (n = 18)			100,4 6,8			
Tỷ lệ LLOQ/Zero	8,2		6,8		13,8	

Kết quả thẩm định cho thấy, tại thời điểm tương ứng với thời gian lưu của BIL đáp ứng pic trung bình của mẫu LLOQ gấp hơn 5 lần đáp ứng pic của mẫu zero. Độ đúng trung bình của từng lô và của 3 lô khác nhau đều nằm trong khoảng 80 % – 120 % so với nồng độ thực; độ chính xác của từng lô và của 3 lô khác nhau đều nhỏ hơn 20 %, đáp ứng yêu cầu giới hạn định lượng dưới của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học [5].

3.2.4. Xác định độ đúng, độ lặp lại của phương pháp

Tiến hành thẩm định độ đúng, độ lặp lại trên 5 lô

mẫu QC bao gồm LLOQ, LQC, SQC, MQC và HQC chứa BIL có nồng độ tương ứng lần lượt là 3 ng/ml; 9 ng/ml; 72 ng/ml; 300 ng/ml; và 480 ng/ml. Xác định hàm lượng BIL có trong các mẫu bằng đường chuẩn phân tích trong cùng điều kiện. Độ đúng của phương pháp là tỷ lệ % giữa nồng độ thực tế xác định được so với nồng độ lý thuyết. Độ lặp lại của phương pháp được biểu thị bằng giá trị CV %. Kết quả xác định độ đúng, độ lặp lại của phương pháp được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả thẩm định độ đúng, độ lặp lại trong ngày và khác ngày

Độ đúng, độ chính xác	LLOQ (3 ng/ml)		LOQ (9 ng/ml)		SQC (72 ng/ml)		MQC (300 ng/ml)		HQC (480 ng/ml)	
	Độ đúng (%)	CV (%)	Độ đúng (%)	CV (%)	Độ đúng (%)	CV (%)	Độ đúng (%)	CV (%)	Độ đúng (%)	CV (%)
Ngày 1 (n = 6)	101,5	2,8	99,6	5,4	103,8	2,8	97,3	3,0	101,6	4,7
Ngày 2 (n = 6)	93,8	4,7	95,5	6,2	94,7	2,2	94,2	5,2	100,0	0,6
Ngày 3 (n = 6)	105,7	6,2	100,7	2,1	102,0	3,9	97,7	2,4	91,5	1,7
Khác ngày (n = 18)	100,4	6,8	98,6	5,1	100,2	5,0	96,4	3,8	97,7	5,4

Kết quả thẩm định cho thấy ở các khoảng nồng độ thấp; trung bình và cao, phương pháp có độ đúng trong ngày, khác ngày đều nằm trong khoảng 85 – 115 % (mẫu LLOQ nằm trong khoảng 80 – 120 %), độ chính xác trong

ngày, khác ngày với giá trị CV < 15 % (mẫu LLOQ với CV < 20 %); đáp ứng các yêu cầu về độ đúng, độ lặp lại của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học theo hướng dẫn của US-FDA [5].

3.2.5. Độ ổn định của dược chất trong huyết tương và trong quá trình xử lý mẫu

Tiến hành nghiên cứu độ ổn định của BIL trong HT tại 2 mức nồng độ LQC và HQC. Riêng độ ổn định autosampler được đánh giá trên 4 mức nồng độ LQC,

SQC, MQC và HQC. Đánh giá độ ổn định của dược chất bằng cách so sánh nồng độ BIL có trong mẫu được bảo quản ở những điều kiện nhất định với nồng độ lý thuyết. Kết quả nghiên cứu độ ổn định được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả nghiên cứu độ ổn định

Độ ổn định	Mẫu	Nồng độ ban đầu (ng/ml)	Nồng độ sau bảo quản (ng/ml; n=6)	% độ ổn định	CV%
5 chu kỳ đông – rã đông	LQC	9,04	9,40	104,0	4,7
	HQC	482,04	485,00	100,6	1,7
Độ ổn định thời gian ngắn (6 giờ; nhiệt độ phòng)	LQC	9,04	9,13	101,0	6,0
	HQC	482,04	483,83	100,4	2,7
Độ ổn định trong autosampler (72 giờ/4 °C)	LQC	9,04	9,09	100,6	3,0
	SQC	72,28	78,97	109,3	2,8
	MQC	301,18	317,08	105,3	3,5
	HQC	481,88	496,68	103,1	1,0
Độ ổn định sau khi ly tâm (1 giờ; nhiệt độ phòng)	LQC	9,04	9,68	107,1	3,6
	HQC	482,04	473,40	98,2	2,1
Độ ổn định thời gian dài (83 ngày; -70 °C)	LQC	9,04	9,56	105,8	2,1
	HQC	482,04	441,65	91,6	2,8

Kết quả nghiên cứu độ ổn định cho thấy bilastin trong mẫu huyết tương ổn định sau 5 chu kỳ đông - rã đông, ổn định khi xử lý và bảo quản ở nhiệt độ phòng (6 giờ) và ổn định trong thời gian dài (-70 °C, 83 ngày) (yêu cầu % độ ổn định phải đạt từ 85,0 % đến 115,0 %) [5].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp định lượng bilastin trong huyết tương người bằng kỹ thuật LC-

MS/MS. Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp có giá trị giới hạn lượng nhỏ (3 ng/ml); khoảng tuyến tính rộng (3 ng/ml đến 600 ng/ml); độ đúng và độ lặp lại đáp ứng yêu cầu đối với phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học của US-FDA. Phương pháp đã xây dựng có thể ứng dụng trong các nghiên cứu đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học đối với chế phẩm chứa hoạt chất bilastin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- <https://www.mims.com/vietnam/drug/info/bilaxten>.
- B. Sádaba, J.R. Azanza, A. García-Bea, L. Labeaga, C. Campo, R. Valiente (2019), Bioequivalence Evaluation of Three Pediatric Oral Formulations of Bilastine in Healthy Subjects: Results from a Randomized, Open Label, Crossover Study, *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, <https://doi.org/10.1007/s13318-019-00596-2>.
- T. Michinori, Y. Hidetoshi, R. Mónica, et al. (2016), Pharmacokinetics, pharmacodynamics and population pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of bilastine, a second-generation antihistamine, in healthy Japanese subjects, *Clinical Drug Investigation*, 36, pp. 1011-1021.
- J. Gierón (2019), Determination of bilastine in biological material -analysis of a fatal case, *Problems of Forensic Sciences*, 119, pp. 225–239
- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2018), *Guidance for Industry - Bioanalytical Method Validation*.