

Bioequivalência de cloridrato de propafenona 300mg em comprimido revestido em administração pós-prandial em adultos saudáveis

Bioequivalence of propafenone hydrochloride 300mg film coated tablets in healthy adults

José Pedrazzoli Jr.¹, Carlos Eduardo Sverdloff², Paulo Galvinas³, Katia Pastre³, Carolina Sommer Manzon⁴, Guilherme Araújo Pinto⁵

Recebido da Universidade de São Francisco.

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar a bioequivalência de duas formulações de cloridrato de propafenona 300mg em comprimido revestido. **MÉTODOS:** Estudo randomizado, cruzado, aberto, com dois tratamentos, duas sequências e quatro períodos com 60 participantes sadios de ambos os sexos. Os voluntários foram internados em quatro oportunidades durante 24 horas; em cada período, os sujeitos receberam a formulação teste ou a formulação referência, em regime pós-prandial. Foram coletadas 23 amostras de sangue após administração da droga para determinação plasmática da propafenona. Para quantificação da droga, foi utilizada técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial. **RESULTADOS:** As formulações foram consideradas clinicamente bem toleradas. A concentração máxima e a área sob a curva de zero a 36 horas foram comparadas: a média geométrica da razão entre as formulações teste e referência para concentração máxima foi de 110,16%, com intervalo de confiança de 99,44% a 122,04% e coeficiente de variação de 33,95%. A média geométrica da razão entre as formulações teste e referência para a área sob a curva de zero a 36 horas foi de 107,92%, com intervalo de confiança de 99,58% a 116,96% e coeficiente de variação de 26,39%. A média geométrica da razão entre o medicamento teste e referência para área sob a curva de zero ao infinito foi de 107,12%, com intervalo de confiança de 99,11% a 115,78% e coeficiente de variação de 25,48%.

CONCLUSÃO: As formulações teste e referência foram estatisticamente bioequivalentes, de acordo com sua taxa e extensão de absorção.

Descritores: Propafenona; Antiarrítmicos; Arritmias cardíacas; Equivalência terapêutica; Farmacocinética; Disponibilidade biológica

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate the bioequivalence of two 300mg propafenone hydrochloride coated tablets. **METHODS:** Randomized, cross-over, openstudy, with two treatments, two sequences, and four periods with 60 healthy participants of both genders. The volunteers were admitted in four opportunities over 24 hours; on each period, the subjects received a test formulation, or a reference formulation, in a postprandial administration. Twenty-three samples of blood were collected after oral administration of the drug for determining plasma level of propafenone. Liquid chromatography-mass spectrometry was used for quantifying propafenone. **RESULTS:** The formulations were considered clinically well tolerated. The maximum concentration and the area under the curve from zero to 36 hours were compared: the geometric mean of the ratio between the test and reference formulations for maximum concentration was 110.16%, with confidence interval of 99.44% - 122.04%, coefficient of variation of 33.95%. The geometric mean of the ratio between the test and reference formulations for the area under the curve of zero to 36 hours was 107.92%, with confidence interval of 99.58% - 116.96%, and coefficient of variation of 26.39%. The geometric mean of the ratio between the formulations for area under the curve of zero to infinity was 107.12% with confidence interval of 99.11% - 115.78%, and coefficient of variation of 25.48%. **CONCLUSION:** According to the rate and extension of absorption, the test and reference formulations are statistically bioequivalent.

Keywords: Propafenone; Anti-arrhythmia agents; Arrhythmias, cardiac; Therapeutic equivalency; Pharmacokinetics; Biological availability

1. Universidade São Francisco, Bragança Paulista, SP, Brasil.
2. ATCGen, Campinas, SP, Brasil.
3. Magabi Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas, Itaquí/Itapevi, SP, Brasil.
4. Althaia S/A, Atibaia, SP, Brasil.
5. Eurofarma Laboratórios S/A, São Paulo, SP, Brasil.

Data de submissão: 04/07/2016 – Data de aceite: 27/07/2016

Fonte de financiamento: Eurofarma Laboratórios S/A.

Conflito de interesse: não há.

Endereço para correspondência:

Carlos Eduardo Sverdloff – ATCGen
Rua General Marcondes Salgado, 130 – sala 11
CEP 13015-220 – Campinas, SP, Brasil
Fax: (19) 2514-0299 – E-mail: carsver@atcgen.com.br

Projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco sob número 174.594, de 13 de dezembro de 2012.

© Sociedade Brasileira de Clínica Médica

INTRODUÇÃO

Estudos de bioequivalência são de suma importância, pois é por meio deles que surge a oportunidade de lançar no mercado formulações farmacêuticas genéricas que podem proporcionar à população consumidora medicamentos a valores mais acessíveis, sem prejuízo do tratamento.

Os antiarrítmicos são uma classe de droga altamente consumida no Brasil. Sabe-se que a fibrilação atrial é uma das principais causas da arritmia, atingindo cerca de 0,4% da população geral brasileira e cerca de 2% de todos os idosos do país.⁽¹⁾ Apesar de existirem outras formas de tratamento para a fibrilação atrial,⁽²⁾ a mais utilizada ainda é a medicamentosa, sendo o cloridrato de propafenona uma droga eficaz e considerada bem tolerada pelos pacientes.

O cloridrato de propafenona tem efeito estabilizador de membrana na célula miocárdica, possuindo propriedades bloqueadoras de canais de sódio nas fibras ventriculares e de Purkinje (Vaughan Williams, classe IC). Tem também ação betabloqueadora (Vaughan Williams, classe II), com potência aproximada de 1/50 em relação ao propranolol, e fraca atividade bloqueadora de canais de cálcio (Vaughan Williams, classe IV).^(3,4)

A propafenona atinge concentrações plasmáticas máximas em 2 a 3 horas após a administração e é conhecida por sofrer extensa e saturável biotransformação pré-sistêmica, o que resulta em biodisponibilidade de dosagem-dependente⁽⁵⁾. Cerca de 90% da dose administrada é eliminada pelas fezes e urina, tendo uma meia-vida de eliminação entre 2 e 32 horas.^(6,7)

O objetivo deste estudo foi avaliar a bioequivalência de duas formulações de cloridrato de propafenona 300mg em comprimido revestido.

MÉTODOS

Foram selecionados e incluídos 60 participantes de pesquisa saudáveis e de ambos os sexos. Os participantes poderiam ter entre 18 e 50 anos e possuir um peso corporal variando até 15% do peso ideal para sua altura. Foram excluídos aqueles que participaram de qualquer outro tipo de investigação clínica nos 6 meses anteriores ao início do estudo, grávidas ou em período de lactação, com história de abuso de álcool ou drogas ilícitas, ou histórico de alergia à propafenona ou excipientes do medicamento. Os sujeitos de pesquisa também não puderam participar se tivessem feito uso de medicação nos 14 dias que antecederam o estudo, com exceção de terapia anticoncepcional; e se tivessem resultados reagentes para hepatite B, C ou HIV, ou alguma alteração clinicamente significativa nos exames laboratoriais realizados. Os sujeitos de pesquisa não participaram se sabidamente possuíssem alguma condição médica que pudesse interferir na participação no estudo ou se tivessem sido hospitalizados nas 8 semanas que antecederam o estudo.

Todos os participantes da pesquisa assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco juntamente do protocolo clínico.⁽⁸⁾

O estudo foi aberto, randomizado, cruzado, com dois tratamentos e duas sequências, utilizando um delineamento com duas

sequências,⁽⁹⁾ e cada participante de pesquisa foi aleatoriamente designado a uma das seguintes sequências de tratamento: referência - teste - teste - referência (RTTR) ou teste - referência - referência - teste (TRRT). As formulações foram administradas em dose única por via oral em situação pós-prandial, seguidas de coletas de sangue de pelo menos três meias-vidas.

Os sujeitos de pesquisa foram internados por períodos de aproximadamente 36 horas cada, e um jejum hipercalórico foi servido 30 minutos antes da administração da droga.

Os sujeitos de pesquisa receberam uma dose única em cada período, de 300mg de cada formulação com 200mL de água, de acordo com a aleatorização. Em cada período, os sujeitos receberam a formulação teste ou a formulação referência, em regime pós-prandial. Foram coletadas amostras de sangue de 4,5mL por meio de um cateter salinizado colocado em veia do antebraço. Um total de 23 amostras de sangue foram coletadas em tubo com heparina de lítio. Os tempos de coleta foram: zero hora; 30 minutos; 1 hora; 1 hora e 20 minutos; 1h40 minutos; 2 horas; 2 horas e 15 minutos; 2 horas e 30 minutos; 2 horas e 45 minutos; 3 horas; 3 horas e 15 minutos; 3 horas e 30 minutos; 3 horas e 45 minutos; 4 horas; 4 horas e 30 minutos; 5 horas; 6 horas; 8 horas; 10 horas; 12 horas; 16 horas; 24 horas e 36 horas após a administração do medicamento. As amostras foram centrifugadas a 3.000rpm por 10 minutos e o plasma resultante foi separado em dois tubos criogênicos, os quais foram armazenados a -20°C.

As análises das concentrações plasmáticas de propafenona foram conduzidas em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Agilent 1200 Series RRLC System, Alemanha) acoplado a um espectrômetro de massas (Sciex, API5500Qtrap, Canadá). O padrão interno utilizado foi propafenona -d5.

Para extração das amostras, foram pipetados 50µL de plasma em tubo Eppendorf de 2mL e adicionados 50µL de padrão interno (30ng/mL de propafenona-d5) e 500µL de metanol + 5mM ácido fórmico. As amostras foram agitadas por 30 segundos em vórtex e centrifugadas a 20.800rcf por 3 minutos. O sobrenadante foi vertido para tubo de ensaio 13x120mm; foram adicionados 5,0mL de metanol/água (80/20; v/v) + 2,5mM amônia; e a mistura foi agitada por 30 segundos em vórtex. Por fim, foram transferidos 600µL para placa de reação em cadeia em polimerase (PCR). A metodologia para o presente estudo foi validada para os seguintes parâmetros: seletividade, curva de calibração, precisão e exatidão do limite inferior de quantificação (LIQ), precisão e exatidão das amostras de controle de qualidade e para controle de diluição, efeito matriz e efeito residual. Foram realizados teste de estabilidade de pós-processamento, de curta e longa duração, estabilidade de congelamento e descongelamento, em solução do analito e em solução do padrão interno isotópico.

As concentrações do analito nas amostras foram determinadas a partir de curvas de calibração, definidas pelo método de regressão linear, cujos pontos foram obtidos a partir de plasma humano branco, contaminado com quantidades conhecidas do analito (propafenona) e do padrão interno (propafenona -d5).

Como fase móvel, foram utilizados: metanol/água (80/20; v/v) + 2,0mM amônia em fluxo de 1,0mL/min com tempo de corrida de 3,5min. Foi utilizada uma coluna Phenomenex, Gemini®, C18, 5µm (50x4,6mm) e uma pré-coluna Phenomenex, Gemini® C18 5µm (4x3,0mm id).

O espectrômetro de massas operou no modo de ionização em *electrospray* positivo (ES+). Os íons resultantes das moléculas propafenona foram íon-precursor (342,3) e íon-produto (116,1) e, da propafenona -d5, foram íon-precursor (347,3) e íon-produto (121,1), sendo monitorados no modo *Multiple Reaction Monitoring* (MRM). A temperatura da fonte foi de 450 com voltagem do cone (CV) para a propafenona de 20V e, para propafenona -d5, de 20V. A energia de colisão (CE) para a propafenona foi de 30V e, para propafenona -d5, foi de 30V.

Foram usados como padrão de referência a propafenona (lote: 10K-184) e a propafenona -5d (TRC, Toronto Research Chemicals, lote: 5-XAL-172-3), ambas da U.S. Pharmacopeia.

O cálculo das concentrações foi realizado pelo *software* Analyst, versão 1.5.2. A função aplicada às diferentes amostras da curva de calibração foi calculada por um sistema de regressão linear ponderada, utilizando a relação área do analito/área do padrão interno (resposta) proveniente dos respectivos cromatogramas. Essa função foi previamente validada, conforme disposto nas legislações vigentes. As amostras de branco, zero ou rejeitadas pelos critérios de aceitação/rejeição não foram utilizadas para a construção da curva de calibração. As respostas provenientes de cada amostra desconhecida foram, então, interpoladas pelo próprio *software* na curva de calibração, a fim de proporcionar a concentração do composto de interesse.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio dos programas Phoenix/WinNonlin™ versão 6.3, Microsoft Excel, versão 97, Microsoft Word versão 97.

Foi utilizado um delineamento cruzado replicado com duas formulações, quatro períodos, duas sequências (TRRT e RTTR), e cada indivíduo foi aleatoriamente alocado para uma dessas sequências. Este desenho foi utilizado devido à alta variabilidade intraindividual da propafenona.

RESULTADOS

Finalizaram o estudo 57 participantes, pois 2 foram retirados do estudo (1 no período 1 de intenção e outro no período 2 de internação), e 1 saiu por razões pessoais no período 1. Os exames clínicos pós-estudo não demonstraram nenhuma modificação no estado geral de saúde dos participantes de pesquisa que pudesse ser atribuída ao tratamento. Ambas as formulações foram bem toleradas nas doses administradas e não foram relatados eventos adversos graves. O evento adverso mais comum foi cefaleia, possivelmente relacionada ao tratamento, totalizando 25% de todos os eventos. Os participantes também apresentaram vômito, possivelmente relacionado ao tratamento, sendo 11% de todos os eventos. O evento adverso mais comum não relacionado ao tratamento foi alterações de resultados laboratoriais pós-estudo, totalizando 50%. Todos os eventos adversos foram resolvidos sem sequência.

A tabela 1 mostra os resultados dos parâmetros farmacocinéticos médios obtidos dos participantes de pesquisa sadios após a administração da formulação de propafenona 300mg em regime pós-prandial. A razão entre as médias geométricas entre a propafenona formulação teste e a formulação referência para o parâmetro concentração máxima foi de 110,16%, com intervalo de confiança (IC) de 90% igual a 99,44% a 112,04%. Para o parâmetro área sob a curva de zero a 36 horas, a razão das médias geométricas foi 107,92% com IC de 90% igual a 99,58% a 116,96%.

Na tabela 2 estão apresentados os resultados da Análise de Variância (ANOVA), para o parâmetro concentração máxima. Não foi observado efeito de formulação e período ao nível de 5% de significância, e não houve efeito de sequência ao nível de 10% de significância.

Os resultados da ANOVA para o parâmetro área sob a curva de zero a 36 horas estão descritos na tabela 3.

Tabela 1. Média e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos

Parâmetro	Formulação referência		Formulação teste	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
C_{max} , ng/mL	370,304	296,1	396,563	298,000
ASC_{0-36} , ng.h/mL	1.569,703	2.093,294	1.625,175	1.991,904
ASC_{0-inf} , ng.h/mL	1.669,339	2.489,097	1.708,234	2.334,760
C_{max} , hora	3,247	1,565	3,178	1,361
K_0 , 1/hora	0,234	0,088	0,237	0,080
$T_{1/2}$, hora	3,677	2,857	3,533	2,426

C_{max} : concentração máxima; ASC_{0-36} : área sob a curva de zero a 36 horas; ASC_{0-inf} : área sob a curva de zero ao infinito; K_0 : constante de eliminação; $T_{1/2}$: meia-vida de eliminação.

Tabela 2. Análise de variância para concentração máxima

Fonte de variação	Graus de liberdade - numerador	Graus de liberdade - denominador	Estatística F	Valor de p
Interação	1	55	1910.107	0,000
Sequência	1	55	0,095	0,759
Formulação	1	162	2,447	0,120
Período	3	162	0,657	0,580

Tabela 3. Análise de variância para área sob a curva de zero a 36 horas

Fonte de variação	Graus de liberdade - numerador	Graus de liberdade - denominador	Estatística F	Valor de p
Interação	1	55	2208.448	0,000
Sequência	1	55	0.213	0,646
Formulação	1	166	2.458	0,119
Período	3	164	0.818	0,485

Assim como na concentração máxima, não foram observados efeito de formulação e nem período ao nível de 5% de significância, e não houve efeito de sequência ao nível de 10% de significância.

A concentração plasmática média da propafenona vs. o perfil de tempo obtido após a administração de cada formulação de propafenona 300mg encontra-se na figura 1. Já a figura 2 mostra a concentração plasmática média apresentada por cada voluntário vs. a razão (área sob a curva de zero a 36 horas teste/área sob a curva de zero a 36 horas referência) para as formulações teste e referência.

A curva de calibração utilizada para validar o método foi linear, cujo coeficiente de regressão foi $\geq 0,99$ e intercepto não significativo.

O limite de quantificação (LIQ) foi obtido como o menor nível determinável com precisão e exatidão aceitáveis ($\leq 20\%$), sendo o valor encontrado igual 1ng/mL de propafenona no plasma.

DISCUSSÃO

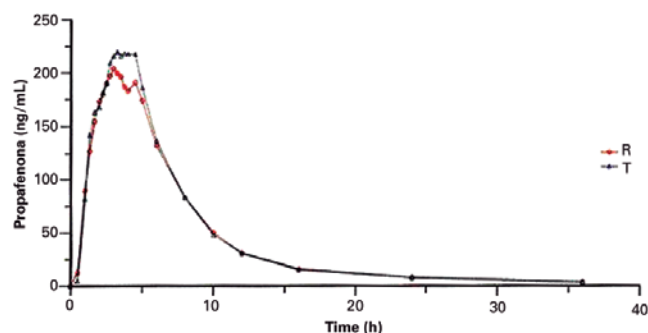
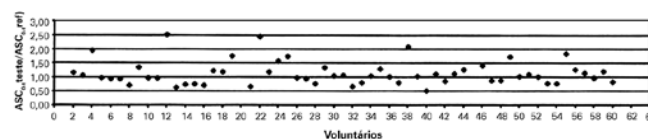
Existem evidências científicas de que as concentrações plasmáticas da propafenona são maiores quando o medicamento é ingerido após alimentação, razão pela qual o presente estudo foi desenvolvido em regime pós-prandial.⁽⁵⁾

Não foi encontrada, na literatura, uma grande gama de estudos de bioequivalência de formulações de propafenona, mas duas publicações destacaram-se, sendo uma relativa à propafenona racêmica e outra à propafenona para uso pediátrico.^(10,11)

Koytchev et al.⁽¹⁰⁾ publicaram os resultados do estudo de bioequivalência entre duas formulações de propafenona 300mg realizado em voluntários sadios do sexo masculino. Os autores encontraram parâmetros farmacocinéticos bastante parecidos com os do presente estudo, corroborando os resultados aqui apresentados. O IC para a concentração máxima encontrado pelos autores foi de 81% a 1.112%, valores bem próximos aos encontrados no presente estudo. Ambos os estudos demonstraram que os valores de T_{max} entre as formulações testes variavam pouco – em média aproximadamente 15 minutos.

Juarez Olguin et al.⁽¹¹⁾ realizaram uma pesquisa de avaliação de bioequivalência para uma suspensão teste de propafenona vs. uma formulação referência de comprimidos, em voluntários sadios no México. O intuito da pesquisa foi verificar se o fármaco teste poderia ser utilizado em pacientes pediátricos, e os resultados encontrados dos parâmetros farmacocinéticos foram favoráveis à hipótese de intercambialidade proposta.

O presente estudo também apresentou metodologia analítica destacada para quantificação das amostras plasmáticas da

**Figura 1.** Concentrações plasmáticas médias da propafenona formulação teste e formulação referência.**Figura 2.** Voluntários vs. razão (área sob a curva de zero a 36 horas teste/área sob a curva de zero a 36 horas referência - ASC_{0-t} teste/ ASC_{0-t} ref).

propafenona. A determinação dos níveis plasmáticos da propafenona pode ser obtida por outros métodos além de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial. Hofmann et al. utilizaram a CLAE acoplada à espectrometria de massas por meio de extração única sólida para quantificar propafenona, 5-hidroxi-propafenona e N-despropilpropafenona em plasma e urina humanos.⁽¹²⁾ Os autores observaram um LIQ de 10pmol/mL para a propafenona. Outro estudo realizado em 1999 realizou a quantificação de propafenona e 5-hidroxi-propafenona por meio de CLAE acoplada à espectrometria de massas em amostras de plasma de voluntários do sexo masculino que ingeriram 300mg de propafenona racêmica. O LIQ encontrado para ambos os enantiômeros de propafenona e 5-hidroxi-propafenona foi de 20ng/mL.⁽¹³⁾ No entanto, nas últimas décadas, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial se tornou uma das principais ferramentas de análise bioanalítica.⁽¹⁴⁾ As técnicas de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial frequentemente fornecem resultados quantitativos específicos e sensíveis com relativo baixo tempo de preparo de amostras e análise em relação a outras téc-

nicas existentes.⁽¹⁵⁾ Os resultados apresentados neste estudo, quando comparados a outros realizados com técnicas analíticas diversas, mostraram-se ótimos no que se referiu à velocidade de análise, sua especificidade e sensibilidade.

CONCLUSÃO

A comparação da biodisponibilidade de formulações distintas em relação a um mesmo princípio ativo e na mesma concentração garante sua intercambialidade. Partindo-se do princípio de que as duas formulações atingem os mesmos níveis plasmáticos, espera-se que o efeito farmacológico seja o mesmo. Deve-se considerar que foram empregadas a taxa e a extensão de absorção requeridas pelos órgãos reguladores *Food and Drug Administration* (FDA) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). As razões das médias dos mínimos quadrados e intervalos de confiança de 90% derivados das análises das medidas farmacocinéticas log-transformadas da área sob a curva de zero a 36 horas, área sob a curva de zero ao infinito e concentração máxima para propafenona encontram-se dentro dos limites de 80 a 125% para as medidas com transformação, conforme critérios definidos pela ANVISA. Diante disso, conclui-se que as formulações de propafenona referência e teste analisadas são bioequivalentes em média e, portanto, equivalentes terapêuticos na prática médica.

REFERÊNCIAS

1. Justo FA, Silva AF. Aspectos epidemiológicos da fibrilação atrial. *Rev Med*. 2014;93(1):1-13.
2. Oliveira LH, Malmann FB, Botelho F, Paul LC, Gianotto M, Abt R de B, et al. Estudo transversal das estratégias de tratamento clínico na fibrilação atrial. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(3):195-202.
3. National Center for Biotechnology Information. PubChem. Compound Summary for CID 4932. Propafenone [Internet]. [cited 2016 Jan 13]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/propafenone>
4. Cloridrato de propafenona [bula do medicamento]. Responsável técnico Sonia Albano Badaró. São Paulo: Eurofarma Laboratórios; 2015.
5. Siddoway LA, Roden DM, Woosley RL. Clinical pharmacology of propafenone: pharmacokinetics, metabolism and concentration-response relations. *Am J Cardiol*. 1984;54(9):9D-12D.
6. Roden DM. Antiarrítmicos. In: Hardman J, Limbird L (eds). Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11ª ed. Colombia: McGraw-Hill-Interamericana; 2007. p. 899-932.
7. Ambrosioni E, Marchesini B. [Clinical pharmacology of propafenone]. *G Ital Cardiol*. 1984;14(4):285-92. Italian.
8. Brasil. Conselho Nacional de Saúde. Resolução no. 466, de 12 de dezembro de 2012 [Internet]. Brasília, DF; 2013. [citado 2016 Jan 13]. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>
9. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução DC/ANVISA no. 898 de 29/05/2003. Determina a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência" [Internet]. Brasília, DF: Diário Oficial; 2 de junho de 2003. [citado 2016 Jan 13]. Disponível em: http://www.normasbrasil.com.br/norma/resolucao-898-2003_98687.html
10. Koytchev R, Alken RG, Mayer O, Böhm R, Ellrich A, Waldner-Kölblin RG. [The bioequivalence of two oral propafenone preparations]. *Arzneimittelforschung*. 1995;45(5):542-5. German.
11. Juarez Olguin H, Florez Pérez C, Ramirez Mendiola B, Barranco Garduño L, Sandoval Ramirez E, Flores Pérez J. Comparative bioavailability of propafenone after administration of a magistral suspension vs commercial tablets in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung*. 2009;59(3):117-20.
12. Hofmann U, Pecia M, Heinkele G, Dilger K, Kroemer HK, Eichelbaum M. Determination of propafenone and its phase I and phase II metabolites in plasma and urine by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2000;748(1):113-23.
13. Zhong D, Chen X. Enantioselective determination of propafenone and its metabolites in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1999;721(1):67-75.
14. Van Bocxlaer JF, Klauwaert KM, Lambert WE, Deforce DL, Van de Eeckhout EG, De Leenheer LR. Liquid Chromatography-mass spectrometry in forensic toxicology. *Mass Spectrom Rev*. 2000;19(4):165-214.
15. Zhong D, Chen X, Gu J, Li X, Guo J. Applications of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in drug and biomedical analyses. *Clin Chim Acta*. 2001;313(1-2):147-50.