

METODE ANALISIS RIFAMPISIN DALAM PLASMA DARAH

Jonathan Setiawan^{1*}, Pande Made Nova Armita Sari²

^{1,2} Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Badung, Bali, Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax:0361-703837

*Corresponding author e-mail: jonathanss234@gmail.com

Abstrak: Rifampisin adalah obat terapi tuberkulosis lini pertama. Konsentrasi rifampisin dalam darah sangat mempengaruhi adanya resistensi dan peningkatan efek samping. Artikel review ini bertujuan untuk meninjau metode analisis rifampisin dalam plasma darah. Metode pada artikel review ini adalah penelusuran dengan mesin pencari PubMed®. Berdasarkan pencarian, metode yang paling banyak digunakan untuk analisis rifampisin dalam plasma darah adalah *high-performance liquid chromatography* (HPLC) dan *ultra performance liquid chromatography* (UPLC) dengan detektor ultraviolet (UV), *diode array* (DAD), atau spektroskopi massa (MS). Berdasarkan metode tersebut, metode UPLC yang dilengkapi dengan detektor MS paling banyak digunakan untuk menganalisa rifampisin dalam plasma darah.

Kata kunci: metode analisis; rifampisin; plasma darah; HPLC; UPLC

Abstract: Rifampicin is a first-line tuberculosis drug. The concentration of rifampicin in the blood greatly affects resistance and increases side effects. This review article aims to review the analytical method of rifampicin in blood plasma. The method in this review article is a search with the PubMed® search engine. Based on research, the most widely used methods for analyzing rifampicin in blood plasma are high performance liquid chromatography (HPLC) and ultra performance liquid chromatography (UPLC) with ultraviolet (UV), diode array (DAD) or mass spectroscopy (MS) detector. . Based on these methods, the UPLC method equipped with an MS detector is the most widely used method for analyzing rifampicin in blood plasma.

Keywords: determination; rifampicin; blood plasma; HPLC; UPLC

PENDAHULUAN

Tuberkulosis adalah penyakit yang terjadi akibat infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Bozorg et al. 2019). Menurut WHO pada tahun 2021, terdapat 10,6 juta kasus penyakit tuberkulosis dan 1,4 juta kematian akibat dari penyakit tuberkulosis (WHO,2022). Menurut FDA, obat yang dapat digunakan sebagai pengobatan lini pertama pada penyakit tuberkulosis yaitu isoniazid, rifampisin, ethambutol, dan pirazinamid (Bozorg et al. 2019). Konsentrasi obat tuberkulosis dalam darah yang rendah dapat berakibat pada resistensi obat dan meningkatkan efek samping (Wang et al., 2020). TDM (*Therapeutic Drug Monitoring*) adalah pengujian konsentrasi obat dalam darah. Penggunaan TDM dalam terapi tuberkulosis dapat menjamin efektivitas dari terapi dan mencegah terjadi resistensi dari obat anti tuberkulosis (Papamichael et al., 2017; Tamargo et al., 2015).

Metode penetapan kadar rifampisin dalam plasma darah sudah banyak dikembangkan, seperti UPLC dengan detektor tandem spektrometer massa yang nilai batas bawah kuantifikasi mencapai 5 ng/mL (Wang et al., 2020). Selain itu, metode HPLC dengan detektor *photodiode array* juga dikembangkan dengan nilai batas bawah kuantifikasi mencapai 100 ng/mL (Goutal et al. 2016).

Artikel ini bertujuan untuk meninjau dan membandingkan metode analisis rifampisin dalam plasma darah.

METODE PENELITIAN

Artikel ini disusun berdasarkan pencarian artikel dari penelitian tentang pengembangan metode analisa rifampisin dalam plasma darah dengan mesin pencari PubMed® menggunakan kata kunci “Determination”, “Rifampisin”, dan “Blood Plasma” dengan memakai fitur *advanced search* ‘AND’, ‘OR’, dan ‘NOT’ pada kata kunci sehingga menjadi ‘Determination’ OR ‘Analysis’ AND ‘Rifampisin’ AND ‘Blood Plasma’ NOT ‘Review’. Kriteria inklusi artikel yang digunakan adalah artikel yang

dipublikasikan dari tahun 2013 sampai 2022, menggunakan bahasa inggris atau bahasa indonesia, *full text*, analisa kuantitatif, dan determinasi serta analisis pada rifampisin. Kriteria eksklusi artikel adalah artikel review. Artikel yang didapatkan berdasarkan pencarian awal adalah 405 artikel lalu difilter berdasarkan kriteria eksklusi dan inklusi sehingga menghasilkan 21 artikel. 21 artikel tersebut akan digunakan dalam review artikel ini.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode yang digunakan untuk analisis rifampisin dalam plasma darah adalah metode HPLC dan UPLC dengan detektor UV atau MS seperti tertera pada tabel 1. HPLC adalah metode analisis yang sering diaplikasikan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif pada produk obat. Prinsip dari HPLC adalah penginjeksian sampel ke kolom yang berisi fase diam, lalu fase gerak dipompa dengan tekanan tinggi menuju kolom. Pemisahan sampel didasarkan pada partisi sampel antara fase diam dan fase gerak (Vidushi & Meenakshi, 2017). UPLC memiliki prinsip yang sama dengan HPLC, tetapi dengan ukuran partikel pada kolom yang lebih kecil dibanding HPLC. Ukuran partikel pada kolom UPLC adalah kurang dari 2 μm sedangkan ukuran partikel pada kolom HPLC adalah 3 sampai 5 μm . Kelebihan dari UPLC adalah memiliki waktu analisis yang lebih cepat, sensitivitas lebih tinggi, mengurangi biaya analisis, peningkatan jumlah sampel yang dianalisis (Taleuzzaman et al., 2015).

Pada review artikel ini, 9 artikel menggunakan metode HPLC dan 12 artikel menggunakan metode UPLC. Pada pengembangan metode analisis, parameter validasi juga harus terpenuhi. Salah satu parameter validasi yang harus terpenuhi pada analisa kuantitatif adalah sensitivitas. Parameter sensitivitas dapat dinilai berdasarkan nilai LLOQ. LLOQ merupakan konsentrasi paling rendah dari analit yang dapat dihitung atau dikuantifikasi dengan akurasi dan presisi yang memenuhi syarat. Pada validasi metode bioanalisis, nilai LLOQ harus tidak lebih dari 5% dari C_{max} atau konsentrasi maksimum analit. Nilai LLOQ yang semakin kecil akan menyebabkan analit dengan konsentrasi kecil dapat terkuantifikasi juga (Ingle et al., 2017). Nilai terkecil LLOQ terdapat pada metode UPLC-MS/MS yaitu 5 ng/mL pada penelitian (Wang et al., 2020) dengan fase gerak air dengan asam format 0,1% dan asetonitril, kolom Shiseido CAPCELL RAK-ADME, elusi gradien, dan laju alir 0,4 mL/menit.

Kondisi kromatografi yang dimaksud seperti kolom, fase gerak, detektor, dan laju alir. Pada review artikel ini, 17 penelitian menggunakan kolom fase terbalik C18, 1 penelitian menggunakan kolom fase terbalik C8, dan 3 penelitian menggunakan kolom fase terbalik HILIC. Pada analisis rifampicin, penggunaan kolom C18 lebih banyak digunakan karena kolom C18 lebih baik dalam pemisahan senyawa non polar. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan kolom C18 terdiri dari rantai karbon yang panjang. Kolom C8 lebih baik pada pemisahan senyawa polar karena memiliki rantai karbon yang lebih pendek. Rifampisin merupakan senyawa non polar sehingga penggunaan kolom C18 lebih efisien.

Fase gerak berfungsi untuk mengelusi sampel sampai dengan detektor. Fase gerak non polar digunakan pada HPLC fase terbalik. pH dan pKa dari analit menentukan waktu retensi dan bentuk puncak dari kromatogram. Bentuk puncak kromatogram juga dipengaruhi oleh penambahan dapar, fase gerak organik, serta penambahan modifier. Penambahan modifier yang digunakan yaitu asetonitril, asam format (Fachi et al., 2020b; Gao et al., 2018; Govender et al., 2018; Hee et al., 2015; Jourdil et al., 2013; Kim et al., 2015; Lei et al., 2020; Panda et al., 2020; Temova Rakuša et al., 2019b; Wang et al., 2020; Winchester et al., 2015; Xing et al., 2021), asam asetat (Goutal et al., 2016b; Grégoire et

al., 2016; Vu et al., 2014; Wu et al., 2020), dan dapar fosfat (Hernández-González et al., 2021). Rifampisin memiliki sifat *zwitter ion* dengan nilai pKa antara 1,7 dan 7,9. Rifampisin juga mengalami degradasi asam pada pH dibawah 4,5 dan degradasi alkali pada pH diatas 7,5 (Goutal et al. 2016). Fase gerak yang dipakai pada analisis rifampisin dengan metode HPLC dan UPLC adalah air untuk pelarut polar dan asetoneitril untuk pelarut non polar. Asetoneitril memiliki sifat sebagai polar-apotik, sedangkan metanol bersifat polar protik. Kelebihan dari asetoneitril dibandingkan dengan metanol adalah memiliki cut off UV yang rendah, titik didih yang tinggi, dan kekuatan mengelusi yang lebih tinggi.

Tabel 1. Metode analisa rifampisin dalam plasma darah

No	Analit	Matriks	Metode	Sistem	LLOQ (ng/mL)	Pustaka
1.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-UV	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak: air: asam asetat 0,01% dan asetoneitril: asam asetat 0,01% Kolom: AtlantisT3[®] C18 Elusi: Gradien Laju alir: 1,2 mL/menit Detektor: Photodiode array (330 nm) 	100	(Goutal et al. 2016)
2.	Rifampisin	Plasma tikus	HPLC-UV	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak: metanol: asetoneitril: amonia format 10 mM (60:5:35 v/v/v) Kolom: Luna C18 Elusi: isokratik Laju alir: 1 mL/menit Detektor: UV (254 nm) 	Tidak disebutkan	(Zhang et al., 2015)
3.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-UV	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak: air dan metanol Kolom: perfectSil Target ODS-3 Reverse Phase C18 Elusi: gradien Laju alir: 1 mL/menit Detektor: DAD (336 nm) 	1000	(Bozorg et al. 2019)
4.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-UV	<ul style="list-style-type: none"> Fase gerak: dapar asetat 0,05 M pH 5,7 : asetoneitril (65:35 v/v) Kolom: Chromolith RP- 8 Elusi: gradien Laju alir: 1,2 mL/menit 	5000	(Louveau et al., 2016)

				<ul style="list-style-type: none"> • Detektor: DAD (335 nm) 		
5.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-UV	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: larutan natrium heptanasulfonat 20 mM dan dapar fosfat 2,5 mM: asetonitril (95:5) • Kolom: Waters X-terra RP18 • Elusi: gradien • Laju alir: 0,4 mL/menit • Detektor: DAD (334 nm) 	1200	(Hernández-González et al., 2021)
6.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-UV	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: larutan amonia dihidrogen fosfat 42 mM pada pH 4.60): asetonitril: metanol (46:40:14 v/v/v). • Kolom: Xtimate C18 • Elusi: gradien • Laju alir: 1-1,2 mL/menit • Detektor: UV (336 nm) 	1200	(Li et al., 2014)
7.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: asetonitril: air: asam asetat (66:33.9:0.1 v/v/v) • Kolom: POROS® R1/20 • Elusi: isokratik • Laju alir: 3 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple-quadrupole 	1000	(Grégoire et al., 2016)
8.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: air dengan asam format 0,1% (pertama), metanol dengan asam format 0,1% (kedua), air dengan asam format 10 mM (ketiga), dan asetonitril dengan asam format 0,1% (keempat) • Kolom: Phenomenex Kinetex 	2000	(Jourdil et al., 2013)

				<ul style="list-style-type: none"> • Elusi: gradien • Laju alir: 0,9 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple-quadrupole ESI 		
9.	Rifampisin	Plasma manusia	HPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: 0,02% asam heptafluorobutiric dan 0,2% asam format dalam metanol serta 0,02% asam heptafluorobutiric dan 0,2% asam format dalam air • Kolom: ZORBAX SB C18 • Elusi: gradien • Laju alir: 0,3 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple-quadrupole ESI 	200-4000	(Gao et al., 2018)
10.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: air dengan asam format 0,1% dan asetonitril • Kolom: Shiseido CAPCELL RAK-ADME • Elusi: gradien • Laju alir: 0,4 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple-quadrupole 	5	(Wang et al., 2020)
11.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: asam asetat 0,05% dalam amonia asetat 5 mM dan amonia asetat 50 mM: asetonitril (1:9 v/v) • Kolom: Inertsil HILIC • Elusi: gradien • Laju alir: 0,4 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple-quadrupole ESI 	Tidak disebutkan	(Wu et al., 2020)
12.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-QTOF-MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: air dengan asam format 0,1% dan amonia format 5 mM (pertama) serta 	2500	(Fachi et al., 2020a)

				asetonitril: air (95:5 v/v) dengan asam format 0,1% dan amonia format 5 mM (kedua)		
				<ul style="list-style-type: none"> • Kolom: Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 • Elusi: gradien • Laju alir: 0,3 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa QTOF ESI 		
13.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: amonia format 5 mM dan asam format 0,1% dalam air (pertama) serta asetonitril (kedua) • Kolom: SynchronisTM Silika C18 • Elusi: gradien • Laju alir: 0,6 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple quadrupole ESI 	1000	(Panda et al., 2020)
14.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: air Milli-Q mengandung asam format 0,1% (pertama) dan asetonitril: air Milli-Q (99,8:0,2 % v/v) (kedua) • Kolom: core-shell Kinetex C18 • Elusi: gradien • Laju alir: 0,8 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple quadrupole ESI 	5000	(Temova Rakuša et al., 2019a)
15.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: asetonitril: air: dapar (amonia asetat 10 g/L, asam asetat 35 mg/L, dan trifluoroasetat anhidrat 2 mg/L) pada pH 3,5 (90:5:5 % v/v/v) • Kolom: HyPurity C18 • Elusi: gradien • Laju alir: 0,3 mL/menit 	1500	(Vu et al., 2014)

				<ul style="list-style-type: none"> • Detektor: Spektrometer massa triple quadrupole ESI 		
16.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: asetonitril: air (75:25% v/v) yang keduanya mengandung asam format 0,1% • Kolom: Agilent Zorbax HILIC Plus • Elusi: isokratik • Laju alir: 0,2 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple quadrupole ESI 	31,3	(Govender et al., 2018)
17.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: air: asetonitril (55:45% v/v) mengandung asam format 5% • Kolom: ACE[®] C18 • Elusi: isokratik • Laju alir: 1 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple quadrupole 	79	(Winchester et al., 2015)
18.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: amonia format 10 mmol/L dalam air (pertama) dan asam format 0,1% dalam metanol (kedua) • Kolom: Acquity UPLC HSS T3 • Elusi: gradien • Laju alir: 0,35 mL/menit • Detektor: Spektrometer massa triple quadrupole 	200	(Xing et al., 2021)
19.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: air, asam format 0,1%, amonium format 10 mmol/mL (pertama) dan metanol:asetonitril: asam format 0,1% (50:50:0,1 % v/v/v) (kedua) • Kolom: AQ-C18 • Elusi: gradien 	200	(Lei et al., 2020)

				<ul style="list-style-type: none"> • Laju alir: 0,3 mL/menit • Detektor: spektrometer massa API 3200 ESI 		
20.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: larutan asam format 0,1% (pertama) dan asetonitrilf mengandung asam format 0,1% (kedua) • Kolom: Atlantis HILIC • Elusi: gradien • Laju alir: 0,2 mL/menit • Detektor: spektrometer massa Triple Quadrupole ESI 	200	(Kim et al., 2015)
21.	Rifampisin	Plasma manusia	UPLC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Fase gerak: amonia asetat 5 mM (pertama) dan 90% asetonitril dalam air mengandung asam format 0,1% (kedua) • Kolom: Zorbax SB-aq column • Elusi: gradien • Laju alir: 0,5 mL/menit • Detektor: spektrometer massa Triple Quadrupole 	25	(Hee et al., 2015)

Keterangan:

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography*

UPLC: *Ultra Performance Liquid Chromatography*

MS: *Mass Spectrometer*

QTOF: *Quadrupole Time of Flight*

UV: *Ultraviolet*

DAD: *Diode Array Detector*

PDA: *Photo Diode Array*

LLOQ: *Lower Limit of Quantification*

Pada sistem elusi HPLC dan UPLC, sistem elusi dapat dikelompokkan menjadi sistem isokratik dan sistem gradien. Sistem isokratik memompa fase gerak dengan komposisi dan kecepatan yang konstan. Sistem gradient memompa fase gerak dengan komposisi yang berbeda pada kurun waktu tertentu. Kromatogram dengan sistem isokratik memiliki kapasitas puncak yang rendah dan sampel tertahan pada kolom yang menghasilkan puncak yang melebar. Sistem gradien memiliki kemampuan pemisahan yang lebih signifikan dibandingkan dengan isokratik sehingga mneghasilkan puncak kromatogram yang lebih tidak lebar dibandingkan isokratik (Vidushi & Meenakshi, 2017). Sebanyak 4

dari 21 penelitian menggunakan sistem elusi isokratik, sedangkan 17 sisanya menggunakan sistem elusi gradien.

Pada review artikel ini, 6 penelitian menggunakan detektor UV (Bozorg et al., 2019b; Goutal et al., 2016b; Hernández-González et al., 2021; Li et al., 2014; Louveau et al., 2016; Zhang et al., 2015). Panjang gelombang maksimum untuk deteksi rifampisin adalah 330 nm (Goutal et al. 2016), 254 nm (Zhang et al., 2015), 334 nm (Hernández-González et al., 2021), 335 nm (Louveau et al., 2016), 336 nm (Bozorg et al. 2019). Pada detektor UV, nilai LLOQ yang dihasilkan antara 100-5000 ng/mL.

Deteksi analit dengan spektrometer massa lebih selektif dan spesifik dibanding detektor UV sehingga diaplikasikan untuk menganalisa banyak sampel dalam waktu yang singkat. Pada review artikel ini, 15 penelitian menggunakan detektor spektrometer massa. 5 diantaranya menggunakan detektor spektrometer massa triple quadrupole, 9 diantaranya menggunakan detektor spektrometer massa triple quadrupole ESI, 1 diantaranya menggunakan detektor spektrometer massa QTOF ESI. Nilai LLOQ pada HPLC-MS/MS adalah 200-4000 ng/mL, sedangkan nilai LLOQ pada UPLC-MS/MS adalah 5-2500 ng/mL.

KESIMPULAN

Metode analisis kuantitatif rifampisin dalam plasma darah adalah UPLC dengan detektor spektrometer massa. Metode UPLC dilengkapi dengan detektor spektrometer massa lebih sensitif dibanding dengan metode lainnya dikarenakan memiliki nilai LLOQ yang paling rendah, yaitu 5 ng/mL. Fase gerak yang paling banyak dipakai adalah asetonitril. Kolom yang paling banyak dipakai adalah kolom C18. Sistem elusi yang paling banyak digunakan adalah sistem elusi gradien.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang mendukung penelitian, sumber pendanaan maupun dalam penulisan artikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Bozorg, B. D., Goodarzi, A., Fahimi, F., Tabarsi, P., Shahsavari, N., Kobarfard, F., & Dastan, F. (2019a). Simultaneous determination of isoniazid, pyrazinamide and rifampin in human plasma by high-performance liquid chromatography and uv detection. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18(4), 1735–1741. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100849>
- Bozorg, B. D., Goodarzi, A., Fahimi, F., Tabarsi, P., Shahsavari, N., Kobarfard, F., & Dastan, F. (2019b). Simultaneous determination of isoniazid, pyrazinamide and rifampin in human plasma by high-performance liquid chromatography and uv detection. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18(4), 1735–1741. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100849>
- Fachi, M. M., Vilhena, R. O., Boger, B., Domingos, E. L., dos Santos, J. M. M. F., Junkert, A. M., de Fátima Cobre, A., Momade, D. R. O., Beraldi-Magalhães, F., de Liz, M. V., Cordeiro-Santos, M., & Pontarolo, R. (2020a). LC-QToF-MS method for quantification of ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in human plasma and its application. *Biomedical Chromatography*, 34(5). <https://doi.org/10.1002/bmc.4812>
- Fachi, M. M., Vilhena, R. O., Boger, B., Domingos, E. L., dos Santos, J. M. M. F., Junkert, A. M., de Fátima Cobre, A., Momade, D. R. O., Beraldi-Magalhães,

- F., de Liz, M. V., Cordeiro-Santos, M., & Pontarolo, R. (2020b). LC–QToF–MS method for quantification of ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in human plasma and its application. *Biomedical Chromatography*, *34*(5). <https://doi.org/10.1002/bmc.4812>
- Gao, S., Wang, Z., Xie, X., You, C., Yang, Y., Xi, Y., & Chen, W. (2018). Rapid and sensitive method for simultaneous determination of first-line anti-tuberculosis drugs in human plasma by HPLC-MS/MS: Application to therapeutic drug monitoring. *Tuberculosis*, *109*, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2017.11.012>
- Goutal, S., Auivity, S., Legrand, T., Hauquier, F., Cisternino, S., Chapy, H., Saba, W., & Tournier, N. (2016a). Validation of a simple HPLC-UV method for rifampicin determination in plasma: Application to the study of rifampicin arteriovenous concentration gradient. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *123*, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.02.013>
- Goutal, S., Auivity, S., Legrand, T., Hauquier, F., Cisternino, S., Chapy, H., Saba, W., & Tournier, N. (2016b). Validation of a simple HPLC-UV method for rifampicin determination in plasma: Application to the study of rifampicin arteriovenous concentration gradient. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *123*, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.02.013>
- Govender, K., Adamson, J. H., & Owira, P. (2018). The development and validation of a LC-MS/MS method for the quantitation of metformin, rifampicin and isoniazid in rat plasma using HILIC chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *1095*, 127–137. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.07.041>
- Grégoire, M., Leroy, A. G., Bouquié, R., Malandain, D., Dailly, E., Boutoille, D., Renaud, C., Jolliet, P., Caillon, J., & Deslandes, G. (2016). Simultaneous determination of ceftaroline, daptomycin, linezolid and rifampicin concentrations in human plasma by on-line solid phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *118*, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.10.008>
- Hee, K. H., Seo, J. J., & Lee, L. S. (2015). Development and validation of liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of first line tuberculosis drugs and metabolites in human plasma and its application in clinical study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *102*, 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.09.019>
- Hernández-González, O., Zarazúa, S., Veytia-Bucheli, J. I., González-Chávez, M. M., Rodríguez-Pinal, C. J., Medellín-Garibay, S. E., Uresti-Rivera, E. E., Pérez-Vázquez, F. J., Portales-Pérez, D. P., Romano-Moreno, S., & Milán-Segovia,

- R. del C. (2021). Quantification of pyrazinamide, isoniazid, acetyl-isoniazid, and rifampicin by a high-performance liquid chromatography method in human plasma from patients with tuberculosis. *Journal of Separation Science*, 44(2), 521–529. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000672>
- Ingle, A., Baheti, M., Wate, S., Bhusari, K., & Ingle, A. (2017). International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis Bio-analytical method validation and its importance in Pharma research-A Review Article QR Code *Correspondence Info. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*, 04, 7. <https://doi.org/10.7439/ijapa>
- Jourdil, J. F., Tonini, J., & Stanke-Labesque, F. (2013). Simultaneous quantitation of azole antifungals, antibiotics, imatinib, and raltegravir in human plasma by two-dimensional high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 919–920, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.12.028>
- Kim, H. J., Seo, K. A., Kim, H. M., Jeong, E. S., Ghim, J. L., Lee, S. H., Lee, Y. M., Kim, D. H., & Shin, J. G. (2015). Simple and accurate quantitative analysis of 20 anti-tuberculosis drugs in human plasma using liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 102, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.08.026>
- Lei, Q., Zhao, Y., Wang, H., Zhou, J., Lv, X., Dang, L., & Zhu, C. (2020). Simple and sensitive method for the analysis of 14 antituberculosis drugs using liquid chromatography/tandem mass spectrometry in human plasma. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 34(8). <https://doi.org/10.1002/rcm.8667>
- Li, W., Peng, M., Long, M., Qiu, X., & Yang, L. (2014). Novel on-line column extraction apparatus coupled with binary peak focusing for high-performance liquid chromatography determination of rifampicin in human plasma: A strategy for therapeutic drug monitoring. *Journal of Separation Science*, 37(24), 3603–3609. <https://doi.org/10.1002/jssc.201400714>
- Louveau, B., Fernandez, C., Zahr, N., Sauvageon-Martre, H., Maslanka, P., Faure, P., Mourah, S., & Goldwirt, L. (2016). Determination of rifampicin in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet detection after automatized solid–liquid extraction. *Biomedical Chromatography*, 30(12), 2009–2015. <https://doi.org/10.1002/bmc.3778>
- Panda, B. K., Bargaje, M., & Sathiyarayanan, L. (2020). A simple and reliable analytical method for simultaneous quantification of first line antitubercular drugs in human plasma by LCMS/MS. *Analytical Methods*, 12(31), 3909–3917. <https://doi.org/10.1039/d0ay00889c>
- Papamichael, K., Castele, N. vande, Ferrante, M., Gils, A., & Cheifetz, A. S. (2017). Therapeutic Drug Monitoring during Induction of Anti-Tumor Necrosis

- Factor Therapy in Inflammatory Bowel Disease: Defining a Therapeutic Drug Window. In *Inflammatory Bowel Diseases* (Vol. 23, Issue 9, pp. 1510–1515). Lippincott Williams and Wilkins.
<https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000001231>
- Taleuzzaman, M., Ali, S., Gilani, S., Imam, S., & Hafeez, A. (2015). Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) - A Review. *Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry*, 2(6), 1–6. www.austinpublishinggroup.com
- Tamargo, J., le Heuzey, J. Y., & Mabo, P. (2015). Narrow therapeutic index drugs: A clinical pharmacological consideration to flecainide. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 71(5), 549–567. <https://doi.org/10.1007/s00228-015-1832-0>
- Temova Rakuša, Ž., Roškar, R., Klančar Andrejč, A., Trdan Lušin, T., Faganeli, N., Grabnar, I., Mrhar, A., Kristl, A., & Trontelj, J. (2019a). Fast and Simple LC-MS/MS Method for Rifampicin Quantification in Human Plasma. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4848236>
- Temova Rakuša, Ž., Roškar, R., Klančar Andrejč, A., Trdan Lušin, T., Faganeli, N., Grabnar, I., Mrhar, A., Kristl, A., & Trontelj, J. (2019b). Fast and Simple LC-MS/MS Method for Rifampicin Quantification in Human Plasma. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4848236>
- Vidushi, Y., & Meenakshi, B. (2017). A REVIEW ON HPLC METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION. *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Chemistry*, 2(6), 166–178. <https://doi.org/10.26479/2017.0206.12>
- Vu, D. H., Koster, R. A., Bolhuis, M. S., Greijdanus, B., Altena, R. v., Nguyen, D. H., Brouwers, J. R. B. J., Uges, D. R. A., & Alffenaar, J. W. C. (2014). Simultaneous determination of rifampicin, clarithromycin and their metabolites in dried blood spots using LC-MS/MS. *Talanta*, 121, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.12.043>
- Wang, X., Zhang, H., Han, Y., Huo, L., Cao, Y., Xu, X., & Ai, L. (2020). Rapid and simultaneous determination of ten anti-tuberculosis drugs in human plasma by UPLC-MS/MS with applications in therapeutic drug monitoring. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1152. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122246>
- WHO. (2022). *Global Tuberculosis report 2022*. <http://apps.who.int/bookorders>.
- Winchester, L. C., Podany, A. T., Baldwin, J. S., Robbins, B. L., & Fletcher, C. v. (2015). Determination of the rifamycin antibiotics rifabutin, rifampin, rifapentine and their major metabolites in human plasma via simultaneous extraction coupled with LC/MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 104, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.011>

- Wu, L., Ye, Z., Liu, H., Guo, H., Lin, J., Zheng, L., Chu, N., & Liu, X. (2020). Rapid and highly sensitive quantification of the anti-tuberculosis agents isoniazid, ethambutol, pyrazinamide, rifampicin and rifabutin in human plasma by UPLC-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 180. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113076>
- Xing, Y., Yin, L., Le, X., Chen, J., Zhang, L., Li, Y., Lu, H., & Zhang, L. (2021). Simultaneous determination of first-line anti-tuberculosis drugs and one metabolite of isoniazid by liquid chromatography/tandem mass spectrometry in patients with human immunodeficiency virus-tuberculosis coinfection. *Heliyon*, 7(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07532>
- Zhang, X., Wang, R., Xie, H., Jia, Z., Li, W., Zhang, J., & Wang, Y. (2015). Determination of rifampicin in rat plasma by modified large-volume direct injection RAM-HPLC and its application to a pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography*, 29(3), 475–480. <https://doi.org/10.1002/bmc.3303>