



Tạp chí Khoa học và Kinh tế Phát triển
Trường Đại học Nam Cần Thơ

Website: jsde.nctu.edu.vn



Kỹ thuật LC-MS/MS và ứng dụng vào quy trình định lượng thuốc trong huyết tương người

Đỗ Lê Anh Thu^{1*}, Đỗ Văn Mãi¹

¹Trường Đại học Nam Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm bài viết: Đỗ Lê Anh Thu (email: dlathu.nct@gmail.com)

Ngày nhận bài: 10/12/2023

Ngày phản biện: 10/1/2024

Ngày duyệt đăng: 25/1/2024

Title: LC-MS/MS technique and application to drug quantification in human plasma

Keywords: biological fluid, human plasma, LC-MS/MS, quantitative

Từ khóa: dịch sinh học, định lượng, huyết tương người, LC-MS/MS

ABSTRACT

Currently, liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) is one of the most widely used techniques to quantify drugs in biological fluids, especially in human plasma. The serum matrix is complex, with low drug concentrations, limited sample volume, and a need for analyzing a large number of samples. Therefore, an analytical method with high sensitivity, selectivity, low quantification limits, good reproducibility, and a short analysis time per sample is required. The LC-MS/MS technique with a mass spectrometer (MS/MS) detector, is considered a versatile detector with low detection limits, suitable for low-concentration samples (nM, pM) and limited sample quantities. Therefore, plasma samples have low drug concentrations (in the range of ng/mL), mass spectrometry-based analysis techniques are often employed due to their ability to meet specific requirements, providing high sensitivity, short analysis times, and excellent separation capabilities. Additionally, the development of qualitative and quantitative methods using LC-MS/MS in biological fluids is essential for applications in bioavailability studies and in vivo pharmacokinetics of drugs.

TÓM TẮT

Hiện nay kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ hai lần (LC-MS/MS) là một trong những kỹ thuật được sử dụng nhiều để định lượng thuốc trong dịch sinh học, đặc biệt là trong huyết tương người. Nền mẫu huyết tương là nền mẫu phức tạp, có nồng độ hoạt chất thấp, lượng mẫu ít và số lượng mẫu phân tích nhiều nên đòi hỏi phải có một phương pháp phân tích có độ nhạy, độ chọn

lọc cao, giới hạn định lượng dưới thấp, độ lặp lại tốt và thời gian phân tích cho một mẫu phải đủ ngắn. Kỹ thuật LC-MS/MS có đầu dò khối phổ (MS/MS) được xem là một đầu dò vạn năng, có giới hạn phát hiện thấp, phù hợp với mẫu có nồng độ thấp (nM, pM) và lượng mẫu ít. Do đó với những mẫu huyết tương có nồng độ dược chất thấp (khoảng ng/mL) kỹ thuật phân tích khối phổ thường được sử dụng vì đáp ứng được các yêu cầu về tính đặc hiệu, có độ nhạy cao, thời gian phân tích ngắn và khả năng tách tốt. Ngoài ra, việc phát triển các quy trình định tính, định lượng bằng kỹ thuật LC-MS/MS trong dịch sinh học có thể áp dụng trong nghiên cứu sinh khả dụng và tương đương sinh học in vivo của thuốc là một yêu cầu cấp thiết.

1. GIỚI THIỆU

Hiện nay sắc ký lỏng là một trong những kỹ thuật phân tích được sử dụng rộng rãi. Trong vài năm qua, kỹ thuật sắc ký lỏng đã có những cải tiến đáng kể nhằm thực hiện các phân tích thông lượng cao và hiệu quả cao do nhu cầu xử lý số lượng mẫu phân tích ngày càng tăng và các mẫu ngày càng phức tạp hơn [1]. Máy phân tích phổ khối lượng (thường được gọi là máy đo phổ khối – Mass Spectrometer) dựa trên sự đo lường trực tiếp tỷ lệ khối lượng theo thế điện tích (ký hiệu là m/z) của những ion trong pha khí của chất phân tích. Những ion của chất phân tích được sinh ra từ nguồn ion của máy sẽ được gia tốc và được tách ra bởi bộ phận phân tích khối trước khi đến được bộ phận phát hiện. Tất cả quá trình này xảy ra trong một buồng có hệ thống bơm chân không sâu, đạt từ 10^{-3} đến 10^{-6} Pa [2]. Phổ khối lượng thu được chỉ ra sự tương quan giữa số lượng các ion có giá trị m/z (đến bộ phận phát hiện) theo giá trị m/z . Đa số các ion đều mang điện tích dương +1 nên tỷ lệ m/z tương đương với m (do đó thường gọi là phổ khối). Thông tin từ khối phổ đồ cho phép định tính (dựa vào khối lượng phân tử, cấu trúc phân mảnh) và định lượng (dùng chất chuẩn nội hay

chuẩn ngoại) với giới hạn phát hiện từ picomol (10^{-12} M) đến femtomol (10^{-15} M). Tuy nhiên, việc ghép máy sắc ký lỏng vào máy khối phổ rất khó khăn, cần phải có một bộ phận trung gian là giao diện [2]. Tùy thuộc vào khối lượng phân tử và đặc tính (phân cực hay không phân cực) của hợp chất khảo sát mà có thể sử dụng hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ với các giao diện khác nhau.

Việc phân tích các hoạt chất trong nền mẫu huyết tương thường khó khăn bởi sự phức tạp của các thành phần trong nền mẫu. Nền mẫu huyết tương thường có nồng độ hoạt chất thấp, nền mẫu phức tạp, lượng mẫu ít và số lượng mẫu phân tích nhiều nên các phương pháp phân tích cần phải có độ nhạy, độ chọn lọc cao, giới hạn định lượng dưới thấp, độ lặp lại tốt và thời gian phân tích cho một mẫu đủ ngắn [3],[4]. Bên cạnh việc nghiên cứu phát triển dạng bào chế phối hợp các hoạt chất nhằm cải thiện hiệu quả điều trị và an toàn cho bệnh nhân thì việc phát triển các quy trình định lượng đồng thời các hoạt chất này trong thành phẩm và trong huyết tương người để đánh giá sinh khả dụng hay tương đương sinh học là cần thiết. Đối với những mẫu dịch sinh học có nồng

độ được chất thấp (khoảng ng/mL) kỹ thuật phân tích khối phổ thường được sử dụng, đặc biệt là kỹ thuật sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS) vì có khả năng giảm nhiễu đường nền, tăng độ nhạy và độ chọn lọc của phương pháp lên nhiều lần [4].

2. PHƯƠNG PHÁP

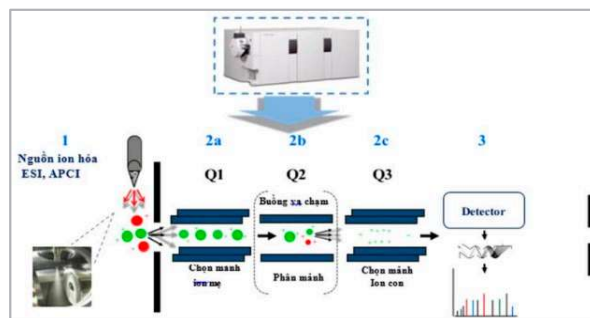
2.1 Tổng quan về sắc ký lỏng-khối phổ

2.1.1 Hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng ghép nối với đầu dò khối phổ hai lần tứ cực

Sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC) có thời gian sắc ký nhanh, cột sắc ký được nhồi bởi các hạt pha tĩnh nhỏ (đường kính hạt < 2 μm) và tốc độ dòng nhỏ hơn. Nguyên tắc cơ bản để cải thiện hiệu suất sắc ký là các hạt pha tĩnh nhỏ hơn cho độ phân giải và hiệu quả phân tách cao hơn với chiều dài cột cố định. So với sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), UPLC có nhiều ưu điểm như cho pic cao hơn, độ phân giải cao, cải thiện độ nhạy và tốc độ phân tích nhanh hơn. Việc cải thiện độ phân giải cũng dẫn đến giảm số lượng các chất rửa giải đồng thời, do đó mang lại độ chọn lọc tốt hơn. Ngoài ra UPLC làm giảm sự loại bỏ ion. Kỹ thuật UPLC có thể chịu được áp suất lên đến 1200 bar cho phép phân tích với các cột sắc ký có kích thước hạt nhỏ từ 1,5-2 μm giúp giảm thời gian, dung môi phân tích và quan trọng hơn làm tăng khả năng phân tách, hiệu năng cột giúp cải thiện độ phân giải và tính đặc hiệu của phương pháp lên gấp nhiều lần [1],[5]. Đã có những công trình nghiên cứu về ứng dụng của kỹ thuật này trong phân tích dịch sinh học ở trong và ngoài nước, và ngày càng có nhiều nghiên cứu hơn vì những ưu điểm đáng kể của nó.

Đầu dò hai lần khối phổ (MS/MS) là đầu dò vạn năng, rất nhạy và khá đắt tiền, sử dụng được rửa giải gradient. Hình 1 là đầu dò hai lần khối phổ (MS/MS) với bộ phận phân tích khối kiểu

hai lần tứ cực được ghép nối tiếp nhau. Trong đó Q1 sẽ chọn lọc các ion mong muốn (ion mẹ) đưa thẳng vào Q2, những ion khác sẽ bị loại bỏ do bị va đập vào các bản điện cực trái dấu. Quá trình phân mảnh ion mẹ thành các ion nhỏ hơn (ion con) diễn ra tại Q2. Trong buồng Q2, ion mẹ chuyển động Brown, va chạm với các phân tử khí trơ có mặt trong buồng. Nhờ va chạm này năng lượng động học của các ion chuyển thành nội năng nên chúng bị phân mảnh tiếp tạo ra các ion con. Các ion con mới hình thành được phân tích khối tách riêng tại Q3 và cuối cùng được đưa đến detector.



Hình 1. Bộ phận phân tích khối 2 lần tứ cực [5]

Với đầu dò khối phổ hai lần tứ cực, để thu được tín hiệu cao nhất (có độ nhạy cao nhất), cần khảo sát một số thông số như kiểu ion hóa (dương hay âm), thế mao quản (capillary voltage), thế cone (cone voltage), thời gian chờ ghi nhận tín hiệu (dwell time), nhiệt độ buồng ion hóa, năng lượng buồng va chạm (collision cell energy), tốc độ dòng khí phun (nebulizer gas flow), nhiệt độ khí bay hơi (desolvation temp) và tốc độ dòng khí bay hơi (desolvation gas flow) và kỹ thuật ghi phổ, ion định tính, định lượng.

2.1.2 Các kiểu ion hóa trong UPLC – MS/MS

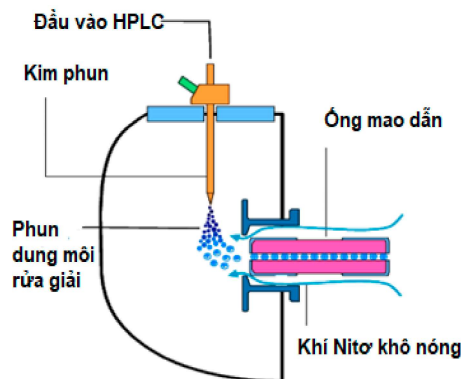
Có hai kiểu ion hóa thông dụng cho hệ thống UPLC-MS/MS là ion hóa tia điện (ESI) và ion hóa hóa học tại áp suất khí quyển APCI.

2.1.3 Ion hóa tia điện (Electrospray Ionization, ESI)

Mẫu phân tích được hòa tan trong dung môi để tạo thành dung dịch điện ly. Dung dịch điện ly này cùng với khí mang được phun sương ra khỏi ống mao quản bằng thép không gỉ với vận tốc 1 – 10 $\mu\text{L}/\text{phút}$ đi vào vùng điện trường có thế từ 3 – 6 kV trong áp suất không khí ở nhiệt độ phòng. Ra khỏi đầu mao quản, các giọt sương mang điện tích âm hay dương (tùy thuộc vào điện thế dương hay âm của điện trường) bị bay hơi dung môi nên càng ở xa đầu phun, giọt sương càng có kích thước nhỏ và bị hút vào bộ phận phân tích khối lượng. Trong kiểu ion hóa này mẫu thử phải được chuyển hóa thành chất điện ly mà điều này phụ thuộc vào dung môi, pKa của mẫu thử trong dung môi và pH của dung dịch điện ly [2].

2.1.4 Ion hóa hóa học tại áp suất khí quyển (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI)

Mẫu được hòa tan vào pha động từ máy sắc ký lỏng cho đi ngang qua một ống mao quản đốt nóng và được phun sương ra khỏi ống mao quản nhờ dòng khí mang nitrogen với lưu lượng dòng có thể đến 1 mL/phút. Các giọt sương này đi vào vùng điện trường có điện cực Corona ở điện thế vài kV. Sự ion hóa có được do hiệu ứng nhiệt ở áp suất khí quyển để tạo thành ion phân tử $(\text{M}+\text{H})^+$ nếu trao đổi proton, hoặc ion phân tử $(\text{M}-\text{H})^-$ nếu trao đổi electron. Các ion này bị hút vào bộ phận phân tích khối lượng do áp suất chân không ở đây. Cách ion hóa này có thể tạo ra một số phân mảnh ion và thích hợp cho việc phân tích những hợp chất có phân tử lượng nhỏ, độ phân cực trung bình rửa giải từ máy HPLC [2].



Hình 2. Nguồn ion hóa tia điện [5]

2.2 Một số kỹ thuật ghi phổ

2.2.1 Kỹ thuật full scan

Đây là phương pháp quét dãy khối trong khoảng thời gian nhất định, đầu dò sẽ nhận được tất cả các mảnh ion để cung cấp phổ khối tất cả ion của các chất trong suốt quá trình phân tích. Việc tìm hợp chất quan tâm có thể khó khăn vì nhiều hợp chất có cùng số khối. Phương pháp này chủ yếu được sử dụng để phân tích định tính [6].

2.2.2 Kỹ thuật SIM (Selected Ion Monitoring)

Trong kỹ thuật SIM hoặc SIR (Selected Ion Recording), đầu dò MS chỉ ghi nhận tín hiệu một số mảnh ion đặc trưng cho chất cần xác định. Kỹ thuật SIM chỉ cho tín hiệu của các ion đã được lựa chọn trước đó, nên kỹ thuật SIM được sử dụng để phân tích định lượng [6].

2.2.3 Kỹ thuật SRM (Selected Reaction Monitoring)

Chọn ion mẹ mong muốn (Q1), sau đó phân mảnh ion được chọn đó trong buồng va chạm, trong các mảnh ion sinh ra, chỉ chọn 1 mảnh ion con cần quan tâm (Q3) và đưa vào đầu dò để phát hiện [6].

2.2.4 Kỹ thuật MRM (Multiple Reaction Monitoring)

Có hiệu quả trong việc phân tích vi lượng trong nền mẫu phức tạp, các ion con cần quan

tâm thường từ 2 trở lên. Đầu tiên, chọn ion mẹ trong tứ cực thứ nhất (Q1), sau đó phân mảnh ion được chọn đó trong buồng va chạm. Trong các mảnh ion sinh ra, chọn hai hoặc nhiều mảnh ion con cần quan tâm (Q3) và đưa vào đầu dò để phát hiện. Kỹ thuật MRM có độ đặc hiệu và độ nhạy cao nên được sử dụng để phân tích định lượng [6].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Tóm tắt một số nghiên cứu trong và ngoài nước

TT	Hoạt chất	Phương pháp xử lý mẫu	Khoảng tuyến tính (ng/mL)	Nội chuẩn (IS)	TLTK
1	Amlodipin	LLE	0,05 - 12	Gliclazid	[7]
2	Indapamid	SPE	1 - 50	Zolpidem tartarat	[8]
3	Deucravacitinib	LLE	0,50 - 601,05	Trimethoprim	[9]
4	Chất chuyển hóa của Molnupiravir (-D-N4-hydroxycytidine)	PPT	10–10000	Promethazine	[10]
5	Amlodipin (AML) và indapamid (IND)	LLE	AML: 0,29–17,14 IND: 1,14 – 68,57	Furosemid	[11]
6	Linagliptin (LIN) và metformin (MEF)	SPE	LIN: 0.25–10 MEF: 25–2000	Alogliptin	[12]
7	Amlodipin (AML), indapamid (IND) và perindopril (PRN)	LLE	AML: 0,2-15 IND: 0,5-50 PRN: 0,5-120	AML-d4 IND-d3 PRN-d4	[13]
8	Simvastatin và chất chuyển hóa beta-hydroxy simvastatin acid (SIM-A)	LLE	SIM: 0,05-50 SIM-A: 0,05-10	Lovastatin	[14]
9	Atorvastatin (AT), ezetimib (EZ) và các chất chuyển hóa ortho hydroxy atorvastatin (OA), Para-hydroxy atorvastatin (PA), Ezetimibe-Glucuronide (EG)	LLE	AT: 0,4-100 EZ: 0,06-15 OA: 0,12-30 PA: 0,05-3 EG:0,06-150	Benzyl paraben	[15]

3.1 Một số công trình nghiên cứu định lượng hoạt chất trong huyết tương người bằng kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ

Hiện nay trên thế giới và Việt Nam đã có những công trình nghiên cứu xây dựng quy trình định lượng một hoạt chất [7],[10] hoặc đồng thời hai [11],[12] hay nhiều hoạt chất [13] cũng như là các chất chuyển hóa [14],[15] trong huyết tương người (Bảng 1).

Đa số các công trình công bố trên thế giới và Việt Nam đều áp dụng kỹ thuật sắc ký lỏng - khối phổ (LC-MS/MS) để định lượng một hay nhiều hoạt chất trong huyết tương. Hiện nay,

một trong những kỹ thuật được sử dụng nhiều để định lượng thuốc trong dịch sinh học là kỹ thuật LC-MS/MS do có nhiều ưu điểm với đầu dò MS/MS được xem là một đầu dò vạn năng.

Tuy nhiên, khi ghép máy sắc ký lỏng với phổ khối phức tạp hơn nhiều so với sắc ký khí – phổ khối vì nhiều yếu tố không tương thích về kỹ thuật giữa 2 máy cần phải giải quyết:

- Máy sắc ký lỏng: hoạt động ở áp suất cao, nhiệt độ thấp, mẫu phân tích ở thể lỏng trong pha động (đôi khi khó bay hơi như dung dịch đậm), lưu lượng lớn (vài mL/ phút).

- Máy phổ khối: hoạt động ở áp suất chân không sâu, nhiệt độ cao, mẫu phân tích phải ở thể khí, lưu lượng nhỏ (vài μL / phút)

Do đó, cần có những giao diện trung gian (interface) thích hợp như giao diện đưa mẫu lỏng trực tiếp, giao diện chùm tia hạt, giao diện ESI, giao diện APCI,...

3.2 Lựa chọn chuẩn nội cho kỹ thuật LC-MS/MS

Các quy trình định lượng với nền mẫu phức tạp thường phải qua nhiều giai đoạn tách chiết (định lượng các chất trong máu, dịch sinh học, một số hoạt chất trong dược liệu, một số thuốc mềm dùng cho da và niêm mạc,...) có thể làm mất chất phân tích dẫn đến kết quả phân tích không chính xác. Để giảm sai số và đạt độ lặp lại cao cũng như để cải thiện độ chính xác trong phép định lượng, phương pháp chuẩn hóa với chất thứ hai được thêm vào mẫu chuẩn và mẫu thử được sử dụng. Chất này gọi là chuẩn nội [2].

Việc sử dụng chất chuẩn nội thường được yêu cầu để đạt được kết quả tin cậy, chính xác và ổn định. Trong nghiên cứu của Rezk và cộng sự năm 2021 [13] sử dụng các chuẩn nội đồng vị (isotope-labeled) có lợi thế đáng kể để đảm bảo độ đúng và độ chính xác của phương pháp do có tính chất vật lý và hóa học hoàn toàn giống với chất phân tích. Tuy nhiên, trên thực tế rất khó để có được các chất này do vấn đề chi phí sản xuất, đặc biệt đối với các chuẩn nội đồng vị của các chất chuyên hóa. Ngoài ra, việc

sử dụng chỉ một chuẩn nội đồng vị cho phương pháp định lượng nhiều chất phân tích hơn sẽ không đảm bảo việc phân tích đúng và chính xác tất cả các chất, đặc biệt khi các chất phân tích có tính chất khác nhau. Để giải quyết vấn đề đó các chất đồng đẳng hay các chất có cấu trúc tương tự với chất phân tích sẽ được chọn làm chất chuẩn nội vì có các đặc tính hóa học gần giống với chất cần phân tích nhưng có thể phân biệt dễ dàng trong phương pháp khối phổ. Các nghiên cứu còn lại trong bảng 1 đều sử dụng các chất đồng đẳng hay các chất có cấu trúc tương tự để làm chuẩn nội [7],[12],[14],[15].

3.3 Ảnh hưởng của nền mẫu huyết tương

Nền mẫu huyết tương là nền mẫu phức tạp, gây ảnh hưởng nhiều nền rất lớn, tuy nhiên một số nghiên cứu công bố chưa thực hiện nội dung này. Ảnh hưởng của nền mẫu trong phân tích sinh học định lượng cho thấy sự ức chế ion hoặc tăng cường ion thường đi kèm với sự suy giảm đáng kể độ đúng và độ chính xác của phương pháp. Ngay cả khi ảnh hưởng của nền mẫu có thể được bù đắp bằng IS thích hợp, các phương pháp nên được thực hiện để loại bỏ các hợp chất gây nhiễu trong nền mẫu vì sự hiện diện của chúng sẽ giảm độ nhạy. Khi phân tích các mẫu có nồng độ thấp, điều này có thể dẫn đến kết quả âm tính. Trong huyết tương và đặc biệt là nước tiểu có nền mẫu rất phức tạp và thành phần của nó có thể khác nhau đáng kể giữa các cá thể và loài. Hầu hết, các phương pháp đều được thực hiện bằng cách sử dụng các nội chuẩn và các chất phân tích được chuẩn bị từ cùng một mẫu trắng. Nên sử dụng các mẫu đồng nhất để tránh sự biến đổi nền mẫu [2],[4].

3.4 Một số phương pháp xử lý mẫu huyết tương

Đặc điểm của huyết tương tươi là phần huyết tương tách ra từ máu toàn phần trong vòng 6 giờ kể từ lúc lấy máu, thành phần chủ yếu gồm

albumin, immunoglobulin và các yếu tố đông máu V, VIII ở mức bình thường. Huyết tương tươi đông lạnh được điều chế bằng cách chiết tách từ máu toàn phần trong vòng 18 giờ sau khi thu gom và làm đông nhanh đến -25 °C hoặc lạnh hơn để bảo toàn được hầu hết các yếu tố đông máu. Một đơn vị huyết tương tươi đông lạnh có thể tích khoảng 200 - 300 mL có nồng độ các yếu tố đông máu, albumin và immunoglobulin ở mức bình thường và nồng độ protein tối thiểu là 50 g/lít [3]. Yêu cầu quy trình xử lý mẫu loại được tối đa tạp chất nhưng ít làm ảnh hưởng đến nồng độ chất

phân tích cũng như quá trình xử lý mẫu phải đảm bảo tính đồng nhất và nguyên vẹn của các chất phân tích có trong mẫu. Thêm vào đó, phương pháp xử lý mẫu cho hiệu suất chiết cao và ổn định.

Giai đoạn làm sạch mẫu là quá trình loại trừ các chất gây nhiễu, nói cách khác là loại trừ ảnh hưởng của nền mẫu. Các phương pháp xử lý mẫu huyết tương thường được sử dụng là phương pháp kết tủa protein (PPT), chiết lỏng - lỏng (LLE) và chiết pha rắn (SPE) [5]. Ba phương pháp xử lý mẫu đều có những thông số cũng như ưu nhược điểm riêng (Bảng 2).

Bảng 2. So sánh ba phương pháp xử lý mẫu LLE, PPT và SPE

Thông số	LLE	PPT	SPE
Độ chọn lọc	Tốt	Thấp	Rất tốt
Độ nhạy	Tốt	Tốt	Tốt
Tính chất chất phân tích	Kỵ nước	Ưa nước	Ưa nước và kỵ nước
Khả năng tự động hóa	Thấp	Thấp	Cao
Chi phí	Cao	Thấp	Cao
Mức độ sử dụng	Phổ biến	Ít	Phổ biến
Khả năng ức chế ion	Thấp	Cao	Thấp

3.5 Thẩm định quy trình định lượng thuốc trong dịch sinh học

Do quá trình phân tích mẫu sinh học bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như lượng mẫu ít, nồng độ thấp, lẫn nhiều tạp chất là các chất nội sinh (lipid, protein, chất nội sinh, chất chuyển hóa,...) và sự khác nhau giữa các cá thể, nên phương pháp phân tích phải được thiết lập và thẩm định để đảm bảo độ tin cậy [3],[4].

Theo EMA và FDA, các chỉ tiêu cần phải thẩm định đối với một quy trình định lượng được chất hay chất chuyển hóa có tác dụng trong mẫu sinh học bao gồm: kiểm tra tính phù hợp của hệ thống, tính đặc hiệu, tỷ lệ thu hồi (hiệu suất chiết), đường chuẩn và khoảng tuyến tính, độ đúng và độ chính xác, giới hạn định lượng dưới, độ ổn định của mẫu thử, ảnh hưởng

của nền mẫu và lượng mẫu tồn dư, ảnh hưởng của sự pha loãng [4].

4. KẾT LUẬN

Hiện nay, kỹ thuật LC-MS/MS với ưu điểm là giới hạn phát hiện rất thấp và được áp dụng khi định lượng các chất có hàm lượng thấp trong nền mẫu phức tạp nên ngày càng được ứng dụng nhiều trong phân tích thuốc trong dịch sinh học đặc biệt là đối với những thuốc có hàm lượng thấp, tuy nhiên chi phí tương đối cao. Ứng dụng của kỹ thuật LC-MS/MS trong xây dựng được quy trình định lượng hoạt chất trong huyết tương người đã cho thấy hiệu quả khá tốt. Quy trình xây dựng có thể được ứng dụng để theo dõi nồng độ hoạt chất trong huyết tương người trong các nghiên cứu sinh khả dụng và tương đương sinh học *in vivo* của các chế phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nahar, L., Onder, A., & Sarker, S. D. (2020). A review on the recent advances in HPLC, UHPLC and UPLC analyses of naturally occurring cannabinoids (2010–2019). *Phytochemical Analysis*, 31(4), 413-457. DOI: 10.1002/pca.2906.
- [2] Vĩnh Định và Võ Thị Bạch Huệ (2019). *Giáo trình Hóa phân tích tập 2*. Nhà xuất bản Y học TP. Hồ Chí Minh, 145-156, 321.
- [3] Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, PL 125-128, PL358-359.
- [4] Nguyễn Đức Tuấn và Phan Thanh Dũng (2021). *Giáo trình Kiểm nghiệm thuốc*. Nhà xuất bản Y học TP. Hồ Chí Minh, 155-216.
- [5] Moein, M. M., El Beqqali, A., & Abdel-Rehim, M. (2017). Bioanalytical method development and validation: critical concepts and strategies. *Journal of Chromatography B*, 1043, 3-11.
- [6] Mass Spectrometry Educational Resource. (2016). *Introduction to MS Quantitation and Modes of LC/MS Monitoring*. <https://www.ionsource.com/tutorial/msquan/intro.htm>. Truy cập ngày 29/09/2023.
- [7] Chan-Mei Lv, Chun-Min Wei, Fan-Long Bu. (2013). Determination of amlodipine in human plasma by LC-MS/MS and its bioequivalence study in healthy Chinese subjects. *Pharmacology & Pharmacy*, 4(2), 191-200. DOI: 10.4236/pp.2013.42027.
- [8] Nakov, N., Mladenovska, K., Labacevski, N. (2013). Development and validation of automated SPE-LC-MS/MS method for determination of indapamide in human whole blood and its application to real study samples. *Biomedical Chromatography*, 27(11), 1540-1546.
- [9] Mahesh, P., Haque, M. A., Salman, B. I., Belal, T. S., Ibrahim, A. E., & El Deeb, S. (2023). Fast and Sensitive Bioanalytical Method for the Determination of Deucravacitinib in Human Plasma Using HPLC-MS/MS: Application and Greenness Evaluation. *Molecules*, 28(14), 5471.
- [10] Komarov, T., Karnakova, P., Archakova, O., Shchelgacheva, D., Bagaeva, N., Popova, M., ... & Shohin, I. (2023). Development and Validation of a High-Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS) Method for Quantification of Major Molnupiravir Metabolite (β -D-N4-hydroxycytidine) in Human Plasma. *Biomedicines*, 11(9), 2356.
- [11] Đỗ Lê Anh Thư, Đỗ Châu Minh Vĩnh Thọ và Nguyễn Đức Tuấn (2022). *Xây dựng quy trình định lượng đồng thời amlodipin và indapamid trong huyết tương người bằng kỹ thuật LC – MS/MS* (Luận văn thạc sĩ). Trường đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.
- [12] Moussa, B. A., Mahrouse, M. A., & Fawzy, M. G. (2019). A validated LC-MS/MS method for simultaneous determination of linagliptin and metformin in spiked human plasma coupled with solid phase extraction: application to a pharmacokinetic study in healthy volunteers. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 163, 153-161.
- [13] Rezk, M. R., & Badr, K. A. (2021). Determination of amlodipine, indapamide and perindopril in human plasma by a novel LC-MS/MS method: Application to a bioequivalence study. *Biomedical Chromatography*, 35(5), e5048.

[14] Chuong, N. N., Tran, T. L., Ta, T. T., Van Pham, S., Tran, H. V., & Nguyen, T. D. (2021). Development and validation of simultaneous assay of simvastatin, beta-hydroxy simvastatin as metabolite in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *MedPharmRes*, 6(2), 9-17.

[15] Le, T. N. N., Chuong, N. N., & Nguyen, T. D. (2023). A One-step Sample Processing Method in Combination With Hplc-Ms/Ms for the Simultaneous Quantification of Atorvastatin, Ezetimibe and Three Metabolites Including O-Hydroxyl Atorvastatin, P-Hydroxyl Atorvastatin, and Ezetimibe-Glucuronide in Human Plasma. Preprints. DOI: 10.20944/preprints202306.1548.v1.