

dung môi pha loãng giúp cải thiện hình dạng pic hẹp hơn, đối xứng hơn đáng kể, do đó hạn chế rủi ro các pic không được tách rõ ràng trên các nền mẫu phức tạp. Phương pháp được thẩm định các tiêu chí theo hướng dẫn của ICH về phương pháp phân tích không hệ thống, các kết quả đáp ứng giới hạn của AOAC. Như vậy, nghiên cứu này đã góp phần cung cấp một phương pháp đơn giản và hiệu quả là công cụ quan trọng góp phần kiểm soát chất lượng dược liệu và sản phẩm chăm sóc sức khỏe chứa Chè dây.

## 5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phát triển được một phương pháp định lượng mới, với quy trình xử lý mẫu đơn giản bằng chiết hỗ trợ siêu âm và cho phép phát hiện DMY từ nồng độ thấp. Phương pháp có khả năng áp dụng trên các nền mẫu phức tạp như dược liệu và các chế phẩm chứa Chè dây.

### Tuyên bố về xung đột lợi ích tiềm ẩn

Các tác giả không có xung đột về lợi ích.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Viện Dược Liệu (2004). Những cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội. 423-425.
- [2] Nguyễn Quỳnh Chi, Nguyễn Thu Hằng, Đỗ Quyên và cộng sự (2025). Chè dây: Nghiên cứu phát triển sản phẩm dược liệu từ tri thức bản địa. Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin Thuốc, 26.
- [3] He C., Chen Y., Xie J., et al. (2025). Dihydromyricetin: An emerging compound with comprehensive effects on multiple systems. *Frontiers in Pharmacology*, 15: 1488003.
- [4] Zhang R., Zhang H., Shi H., et al. (2022). Strategic developments in the drug delivery of natural product dihydromyricetin: Applications, prospects, and challenges. *Drug Delivery*, 29(1): 3052-3070.
- [5] Zhang Y., Wang T., Wu S., et al. (2025). Vine tea (*Ampelopsis grossedentata*)-A different kind of tea hidden deep in the mountains of China: A comprehensive review of the nutritional profile, functional effect, and diverse applications as a novel raw material in food practices. *Trends in Food Science & Technology*, 159: 104939.
- [6] Bộ Y Tế (2017). Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 1107-1108.
- [7] Zhou F.Z., Zhou Z., Zhang X.Y., et al. (2021). Clustering analysis of *Ampelopsis grossedentata* based the contents of dihydromyricetin and myricetin. *International Journal of Food Science and Nutrition* 6(5): 19-23.
- [8] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) (2025). ICH Q2(R2)/Q14 - Analytical Procedure Development and Validation, ICH, Geneva.
- [9] AOAC INTERNATIONAL (2013). Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC, Rockville.
- [10] Liu D., Mao Y., Ding L., et al. (2019). Dihydromyricetin: A review on identification and quantification methods, biological activities, chemical stability, metabolism and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in Food Science & Technology*, 91: 586-597.
- [11] Jin M.Y., Ding Y., Zhang T., et al. (2014). Simultaneous determination of dihydromyricetin and resveratrol in *Ampelopsis sinica* (Miq.) WT Wang by high-performance liquid chromatography coupled with a diode array detection method. *Journal of chromatographic science*, 52(4): 339-343.

## DEVELOPMENT AND VALIDATION A LC-MS/MS METHOD FOR QUANTITATION OF PAROXETINE IN HUMAN PLASMA

TRAN HOANG<sup>1</sup>, CAO NGOC CUONG<sup>1</sup>, NGUYEN THI CHAM<sup>1</sup>, TRAN PHUC CHIEU<sup>1</sup>,  
NGUYEN LAM HONG<sup>2</sup>, DO MINH HIEN<sup>2</sup>, HOANG VAN DUC<sup>1,✉</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Drug Quality Control

<sup>2</sup>Hanoi university of pharmacy

✉Corresponding author: hoangducdkh@gmail.com

Received January 12<sup>th</sup>, 2026; Accepted March 3<sup>rd</sup>, 2026

**Abstract:** A fast, simple, high throughput and specific method using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry was developed for quantitation of paroxetine in human

plasma. The Waters Xevo TQD UPLC-MS/MS was operated under the multi reaction-monitoring mode (MRM 330.1>>192.1 for paroxetine và MRM 334.1>>196.1 for paroxetine-d4) using positive electrospray ionization technique. Paroxetine and internal standard – paroxetine-d4 were extracted from human plasma by liquid-liquid extraction. The samples were chromatographed on a C18 column (dimension 50 x 3 mm, particle 2.5  $\mu$ m) at a flow rate of 0.2 mL/min using 20 mM ammonium formate solution – acetonitrile at ratio of 15 : 85. The calibration curves were found to be linear in the range 0.05 to 20 ng/mL, with mean correlation coefficient of > 0.999. The accuracy was within 85% – 115.0% and the precision was less than 15%. Total run time was 2.5 min. This method can be used for BA-BE studies of paroxetine preparations.

**Keywords:** Paroxetine, LC-MS/MS, Human plasma

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

TRẦN HOÀNG<sup>1</sup>, CAO NGỌC CƯỜNG<sup>1</sup>, NGUYỄN THỊ CHÂM<sup>1</sup>, TRẦN PHÚC CHIÊU<sup>1</sup>,  
NGUYỄN LÂM HỒNG<sup>2</sup>, ĐỖ MINH HIỂN<sup>2</sup>, HOÀNG VĂN ĐỨC<sup>1,✉</sup>

<sup>1</sup>Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

<sup>2</sup>Đại học Dược Hà Nội

✉Tác giả liên hệ: hoangucdk@gmail.com

*Nhận bài ngày 12 tháng 1 năm 2026; Chấp nhận đăng ngày 3 tháng 3 năm 2026*

**Tóm tắt:** Một phương pháp phân tích nhanh, đơn giản, năng suất cao và có tính đặc hiệu, sử dụng thiết bị LC-MS/MS, đã được phát triển để định lượng paroxetin trong huyết tương người. Thiết bị LC-MS/MS Waters Xevo TQD được vận hành dưới chế độ ion hóa dương, sử dụng kiểu định lượng theo dõi nhiều phản ứng (MRM 330,1>>192,1 đối với paroxetin và MRM 334,1>>196,1 đối với paroxetin-d4). Paroxetin và các chuẩn nội paroxetin-d4 được chiết xuất từ mẫu huyết tương sử dụng kỹ thuật chiết lỏng-lỏng. Mẫu sau xử lý được phân tích sắc ký trên cột pha đảo C18, kích thước 50 x 3 mm, cỡ hạt 2,5  $\mu$ m với pha động gồm dung dịch amoniformat 20 mM và acetonitril theo tỷ lệ 15 : 85, tại tốc độ dòng 0,2 mL/phút. Đường chuẩn xây dựng từ 0,05 đến 20 ng/mL với hệ số r > 0,999. Độ đúng trong khoảng 85% – 115% với độ chính xác < 15%. Tổng thời gian phân tích cho mỗi mẫu là 2,5 phút. Phương pháp là phù hợp để áp dụng cho các nghiên cứu sinh khả dụng, tương đương sinh học của các chế phẩm chứa paroxetin.

**Từ khóa:** Paroxetin, LC-MS/MS, huyết tương

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Paroxetin, dẫn xuất của phenylpiperidin, là một thuốc chống trầm cảm thuộc nhóm thuốc ức chế chọn lọc tái hấp thu serotonin tại synap trước của các tế bào thần kinh serotoninergic, làm tăng nồng độ serotonin đến synap sau, từ đó cải thiện các triệu chứng trầm cảm ở bệnh nhân trầm cảm [1].

Paroxetin bị chuyển hóa mạnh bước đầu ở gan bởi enzyme CYP2D6 [1], các kiểu gen của CYP2D6 quy định các nhóm chuyển hóa kém, chuyển hóa trung bình, chuyển hóa mạnh dẫn đến nồng độ paroxetin trong huyết tương dao động rất lớn giữa các cá thể. Sau khi uống liều đơn chế phẩm paroxetin hàm lượng 20 mg, nồng độ cực

đại trong huyết tương của paroxetin rất thấp, nhỏ hơn 10 ng/mL [2, 3].

Để đáp ứng yêu cầu đánh giá tương đương sinh học cho các chế phẩm chứa paroxetin theo quy định của cơ quan quản lý và hướng dẫn đánh giá tương đương sinh học của FDA cho hoạt chất paroxetin [4], cần thiết phải có phương pháp phân tích định lượng hoạt chất trên. Tham khảo các tài liệu cho thấy nhiều phương pháp phân tích đã được phát triển, tuy nhiên hiện ở Việt Nam chưa có công bố cho phương pháp để định lượng paroxetin trong huyết tương người.

Vì vậy, dựa trên các kỹ thuật phân tích hiện có, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu xây dựng và thẩm định

phương pháp định lượng paroxetin trong huyết tương người bằng kỹ thuật LC-MS/MS có đủ độ nhạy, đặc hiệu và chính xác.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Mẫu huyết tương trắng: chứa chất chống đông  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ .

- Mẫu huyết tương tự tạo: là các mẫu huyết tương trắng có chứa chuẩn paroxetin bằng cách hòa tan chất chuẩn này trong huyết tương trắng với các nồng độ khác nhau.

### 2.2. Nguyên vật liệu, thiết bị nghiên cứu

#### 2.2.1. Thiết bị, dụng cụ

Máy sắc ký lỏng khối phổ Xevo TQD (Waters – Mỹ); Cân phân tích Mettler Toledo (Thụy Sĩ, độ nhạy  $d = 0,001$  mg); Tủ lạnh sâu  $-35^\circ\text{C}$  (Panasonic – Nhật Bản); Máy ly tâm lạnh (Sigma – Đức); Máy cô bay hơi dung môi dùng khí Nitơ; Máy lắc xoáy; Máy lọc nước; Bình định mức, micropipet, ống ly tâm. Các thiết bị, dụng cụ phân tích được quản lý và hiệu chuẩn theo các quy định của ISO/IEC và GLP.

#### 2.2.2. Dung môi, hóa chất

- Dung môi, hóa chất: Đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho HPLC và LC/MS.

- Huyết tương (HT) trắng chứa chất chống đông  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ : Không có paroxetin của Bệnh viện Trung ương quân đội 108.

- Chất chuẩn:

+ Paroxetin (PRX) - chuẩn của Viện kiểm nghiệm thuốc thành phố Hồ Chí Minh, SKS: QT322 0223, hàm lượng 97,3% tính theo nguyên trạng.

+ Paroxetin-d4 (PRX-d4) - chuẩn của TRC, Canada, SKS: 9-RJH-142-1, độ tinh khiết 95%. Paroxetin-d4 được sử dụng làm chuẩn nội (IS) của PRX trong phương pháp phân tích.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Điều kiện sắc ký

**Bảng 1.** Điều kiện sắc ký

Cột sắc ký: Luna C18(2)-HST; 50 x 3 mm; 2,5 $\mu\text{m}$	
Tốc độ dòng: 0,2 mL/phút	Nhiệt độ cột: $40^\circ\text{C}$
Pha động: dung dịch amoniformat 20 mM – acetonitrile (15 : 85)	
Thể tích tiêm: 20 $\mu\text{L}$	Nhiệt độ autosampler: nhiệt độ phòng

#### 2.3.2. Điều kiện khối phổ

Kiểu đo mảnh phổ khối hai lần (theo dõi nhiều phản ứng, MRM), nguồn ion hóa phun sương điện vận hành ở chế độ điện tích dương (ESI+). Các thông số của thiết bị khối phổ để phát hiện paroxetin và chuẩn nội (IS) tương ứng được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2.** Các thông số của đầu dò khối phổ dùng để định lượng PRX và chuẩn nội

Hoạt chất	Paroxetin	Paroxetin-d4
<b>Thông số</b>		
Chế độ ion hóa	ESI(+)	ESI(+)
Điện thế ion hóa (kVolt)	0,5	0,5
Điện thế chọn lọc ion (Volt)	50	50
Nhiệt độ hóa hơi ( $^\circ\text{C}$ )	500	500
Tốc độ khí hóa hơi (L/h)	1000	1000
Tốc độ khí thổi ngược (L/h)	50	50
Năng lượng phân mảnh (Volt)	20	20
Ion ban đầu (m/z)	330,1	334,1
Ion tạo thành (m/z)	192,1	196,1

#### 2.3.3. Phương pháp chuẩn bị mẫu

- Dung dịch chuẩn gốc: chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc PRX trong methanol có nồng độ khoảng 500  $\mu\text{g/mL}$  và dung dịch chuẩn nội gốc PRX-d4 có nồng độ khoảng 500  $\mu\text{g/mL}$ .

- Dung dịch chuẩn nội làm việc: từ dung dịch chuẩn nội gốc chuẩn bị dung dịch chuẩn làm việc trong hỗn hợp methanol – nước (1 : 1) có nồng độ PRX-d4 là 100 ng/mL.

- Dung dịch chuẩn làm việc trong dung môi: từ dung dịch chuẩn gốc PRX chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc trong methanol – nước (1 : 1) để pha đường chuẩn có nồng độ lần lượt là 1; 2; 10; 20; 80; 200; 340; 400 ng/mL và các dung dịch chuẩn làm việc để pha mẫu QC có nồng độ lần lượt là 3; 15; 160; 300 ng/mL.

- Từ các dung dịch chuẩn làm việc trong dung môi, chuẩn bị các mẫu bằng cách pha loãng 20 lần với huyết tương trắng để thu được các mẫu trong đường chuẩn chứa PRX có nồng độ từ 0,05 ng/mL đến 20 ng/mL và các mẫu LLOQ, LQC, SQC, MQC và HQC chứa PRX có nồng độ tương ứng là 0,05; 0,15; 0,75; 8; 15 ng/mL.

#### 2.3.4. Phương pháp xử lý mẫu

Mẫu HT bảo quản ở nhiệt độ  $-35^\circ\text{C}$  được để rã đông ở nhiệt độ phòng trước khi xử lý.

Bước 1: Hút 300  $\mu$ L huyết tương vào ống polypropylen 2 mL

Bước 2: Thêm 20  $\mu$ L dung dịch chuẩn nội làm việc (ngoại trừ mẫu blank thêm 20  $\mu$ L methanol – nước (1 : 1))

Bước 3: Thêm 700  $\mu$ L tert-butyl ethyl ether.

Bước 4: Lắc xoáy 1500 vòng/phút trong 3 phút

Bước 5: Ly tâm 9000 vòng/phút (RCF: 9056 g) trong 5 phút

Bước 6: Hút 420  $\mu$ L lớp trên

Bước 7: Bốc hơi dung môi dưới dòng khí nitơ ở 40°C

Bước 8: Hòa tan cặn trong 500  $\mu$ L dung môi pha mẫu, chuyển vào lọ sắc ký.

### 2.3.5. Phương pháp tính kết quả

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

### 2.3.6. Thẩm định phương pháp

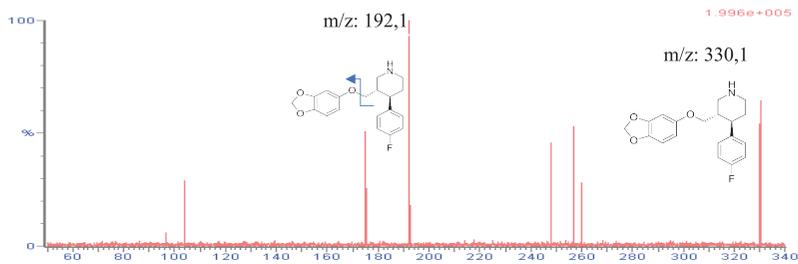
Tiến hành thẩm định phương pháp định lượng paroxetin trong HT người bằng kỹ thuật LC-MS/MS theo quy định

của US-FDA [5] và EMA [6] về thẩm định phương pháp phân tích trong dịch sinh học. Các chỉ tiêu cần thẩm định bao gồm: độ đặc hiệu – chọn lọc của phương pháp; giới hạn định lượng dưới; đường chuẩn – khoảng tuyến tính; ảnh hưởng của nền mẫu; độ nhiễm chéo; độ đúng – độ chính xác trong ngày, khác ngày; tỉ lệ thu hồi và độ ổn định của hoạt chất trong quá trình xử lý, phân tích và bảo quản mẫu dài ngày.

## 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 3.1. Xây dựng quy trình phân tích

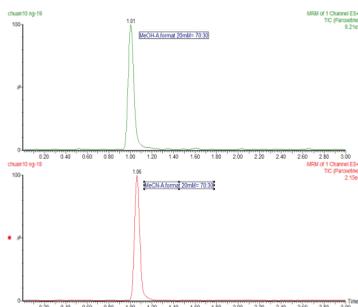
- Khảo sát xác định điều kiện khối phổ: lần lượt đưa vào thiết bị khối phổ dung dịch chuẩn có nồng độ PRX khoảng 100 ng/mL để xác định thông số khối phổ. Phù hợp với cấu trúc hóa học, PRX được ion hóa mang điện tích dương với số khối (m/z) tương ứng là: 330,1. Tiếp tục phân mảnh ion lựa chọn, xác định mảnh ion con đặc trưng có số khối là: 192,1 (Hình 1). Tiến hành tối ưu các thông số điện thế ion hóa, điện thế chọn lọc ion, điện thế phân mảnh, nhiệt độ hóa hơi, tốc độ khí hóa hơi... được xác định cho chất phân tích. Tiến hành tương tự để xác định thông số khối phổ cho chất chuẩn nội.



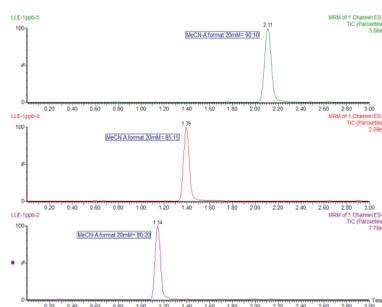
Hình 1. Phổ khối phân mảnh của paroxetin

- Khảo sát xác định điều kiện sắc ký: paroxetin có tính kiềm yếu ( $pK_a \sim 9,7$ ), hệ số phân bố  $\log P \sim 3$ , do đó lựa chọn khảo sát trên cột sắc ký C18 và các hệ pha động chứa methanol, acetonitril với các dung dịch đệm như dung dịch acid formic 0,1%; dung dịch amoniacetat; dung

dịch amonifomat với các tỷ lệ (Hình 2, Hình 3). Quá trình khảo sát cho thấy, lựa chọn cột sắc ký Luna C18(2)-HST (50 x 3 mm; 2,5  $\mu$ m) với pha động gồm acetonitril và dung dịch amonifomat 20 mM, tốc độ dòng 0,2 mL/phút, cho kết quả pic PRX cân đối, đáp ứng cao và lặp lại.



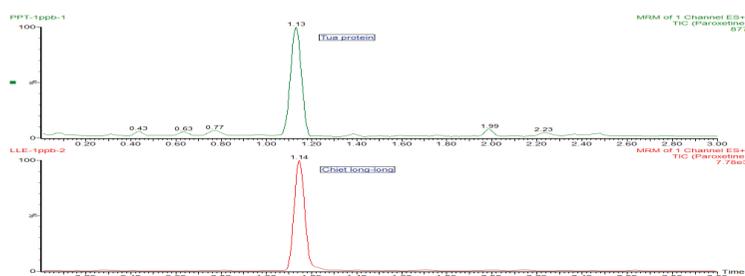
Hình 2. Sắc ký đồ khảo sát thành phần pha động



Hình 3. Sắc ký đồ khảo sát tỷ lệ pha động

- Khảo sát xác định điều kiện xử lý mẫu: dựa trên tính chất của chất phân tích và điều kiện sẵn có, tiến hành khảo sát quy trình xử lý mẫu bằng kỹ thuật tủa protein và chiết lỏng-lỏng. Với kỹ thuật tủa protein, có đặc điểm không phụ thuộc hệ số phân bố của các chất phân tích, nên có thể áp dụng với hầu hết các chất phân tích, quy trình xử lý mẫu nhanh đơn giản, tuy nhiên tín hiệu chất phân tích thu được thấp do pha loãng mẫu, mẫu chứa nhiều tạp (protein, phospholipid...), ảnh hưởng nền mẫu lớn. Với kỹ thuật chiết lỏng-lỏng, do  $\log P \sim 3$ , PRX dễ

dàng được chiết ra khỏi nền mẫu huyết tương, thực hiện khảo sát trên các dung môi chiết khác nhau như tert-butyl methyl ether, diethylether, cloroform... Quá trình khảo sát cho thấy quy trình chiết sử dụng tert-butyl methyl ether cho tỷ lệ thu hồi cao  $\sim 100\%$ , ổn định, quá trình xử lý mẫu nhanh, đơn giản, chi phí thấp, phù hợp với điều kiện của phòng thử nghiệm. Mẫu sau xử lý sạch, khi phân tích sắc ký không nhận thấy có ảnh hưởng của nền mẫu (hệ số MF  $\sim 1$ ). Do đó, lựa chọn quy trình xử lý mẫu chiết lỏng-lỏng với dung môi tert-butyl methyl ether (Hình 4).



Hình 4. Sắc ký đồ khảo sát quy trình xử lý mẫu

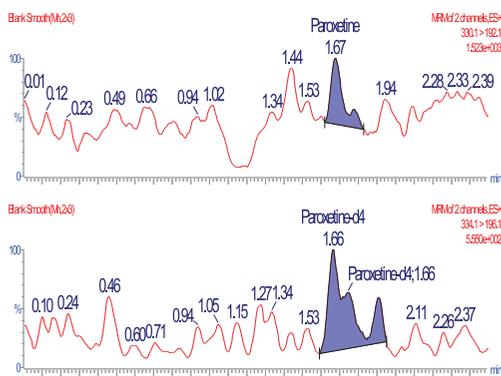
### 3.2. Thẩm định quy trình phân tích

#### 3.2.1. Độ đặc hiệu – chọn lọc

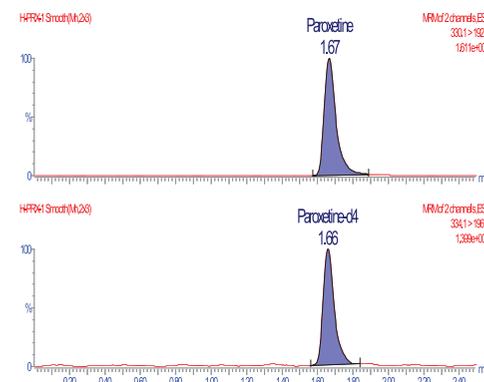
Phân tích các mẫu HT trắng (bao gồm 6 lô HT trắng khác nhau, mẫu huyết tương tan huyết và mẫu huyết tương tăng lipid). Song song phân tích các mẫu HT tại nồng độ LLOQ chứa chuẩn nội và PRX với nồng độ lần

lượt khoảng 0,05 ng/mL (mẫu LLOQ) theo phương pháp đã được xây dựng.

Trên sắc ký đồ của mẫu HT trắng (Hình 5), không xuất hiện pic tại thời điểm trùng với thời gian lưu của PRX (1,67 phút), PRX-d4 (1,68 phút) trên sắc ký đồ của LLOQ (Hình 6).



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu huyết tương trắng



Hình 6. Sắc ký đồ mẫu LLOQ

Kết quả thẩm định cho thấy, đáp ứng tại thời gian lưu các chất phân tích trong các mẫu HT trắng luôn nhỏ hơn 20% đáp ứng các chất phân tích tương ứng trong mẫu LLOQ. Đáp ứng tại thời gian lưu các chất chuẩn nội trong các mẫu HT trắng luôn nhỏ hơn 5% đáp ứng các chất chuẩn nội tương ứng trong mẫu LLOQ. Do vậy, phương pháp phân tích có độ đặc hiệu – chọn lọc với PRX và IS

theo các quy định của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học [5, 6].

#### 3.2.2. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Phân tích các mẫu HT chứa chuẩn PRX có khoảng nồng độ tương ứng lần lượt từ 0,05 ng/mL đến 20 ng/mL theo quy trình đã xây dựng. Tiến hành lặp lại trên 5 đường

chuẩn riêng rẽ. Xác định sự tương quan giữa nồng độ PRX có trong mẫu và tỷ lệ diện tích pic tương ứng PRX/IS bằng phương pháp hồi quy tuyến tính, lựa chọn sử dụng hệ số tỷ trọng ( $1/\text{nồng độ}^2$ ). Tóm tắt kết quả xác định mối tương quan tuyến tính được trình bày trong Bảng 3.

**Bảng 3. Kết quả xác định mối tương quan tuyến tính**

Điểm chuẩn	Nồng độ lý thuyết (ng/mL)	Độ đúng (%)				
		Đường chuẩn 1	Đường chuẩn 2	Đường chuẩn 3	Đường chuẩn 4	Đường chuẩn 5
S1	0,050	97,9	99,1	98,3	98,7	101,0
S2	0,100	103,9	101,1	104,2	102,3	98,4
S3	0,500	100,0	104,8	96,0	101,6	98,2
S4	1,000	102,4	97,6	99,9	99,2	100,7
S5	4,000	103,8	101,4	100,1	99,2	100,3
S6	10,000	94,5	98,2	102,0	99,5	99,0
S7	17,000	98,6	98,1	98,8	98,6	100,4
S8	20,000	98,9	99,7	100,7	100,9	102,1
<b>Phương trình hồi qui (<math>y = ax+b</math>)</b>		$y = 0,125x - 0,00041;$ $r = 0,9994$	$y = 0,125x + 0,00014$ $r = 0,9997$	$y = 0,124x + 0,00063$ $r = 0,9996$	$y = 0,125x + 0,00071$ $r = 0,9999$	$y = 0,126x + 0,00037$ $r = 0,9999$

Kết quả thẩm định cho thấy, trong khoảng nồng độ từ 0,05 ng/mL đến 20 ng/mL có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ PRX với tỷ lệ diện tích pic PRX/IS với hệ số tương quan  $> 0,999$ . Nồng độ PRX xác định từ đường chuẩn so với giá trị lý thuyết đều đạt xấp xỉ 100% và nằm trong giới hạn cho phép theo quy định của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học.

### 3.2.3. Xác định độ đúng, độ lặp lại của phương pháp

Tiến hành thẩm định độ đúng, độ lặp lại tại 5 mức nồng độ LLOQ, LQC, SQC, MQC và HQC, mỗi mức nồng độ tối thiểu 6 mẫu. Xác định nồng độ PRX có trong mẫu bằng phương pháp đường chuẩn và tỷ lệ % giữa nồng độ xác định được từ đường chuẩn so với nồng độ lý thuyết. Tiến hành trên 3 ngày khác nhau. 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**

Mức nồng độ	LLOQ (0,05 ng/mL)		LQC (0,15 ng/mL)		SQC (0,75 ng/mL)		MQC (8 ng/mL)		HQC (15 ng/mL)		
	Độ đúng, Độ lặp lại	Độ đúng (%)	Độ lặp lại (CV%)	Độ đúng (%)	Độ lặp lại (CV%)	Độ đúng (%)	Độ lặp lại (CV%)	Độ đúng (%)	Độ lặp lại (CV%)	Độ đúng (%)	Độ lặp lại (CV%)
Ngày 1 (n = 6)	98,1	98,1	9,7	98,9	4,5	103,6	3,9	102,3	3,5	104,2	3,1
Ngày 2 (n = 6)	104,3	104,3	11,0	105,9	5,5	99,3	2,6	103,0	1,8	99,5	1,2
Ngày 3 (n = 6)	120,0	120,0	17,0	109,6	8,7	100,1	1,9	99,7	2,7	97,0	1,8
Khác ngày (n = 3)	107,4	107,4	15,5	104,8	7,6	101,0	3,4	101,7	3,0	100,2	3,7

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 từ 85% đến 115% (ngoại trừ mẫu LLOQ từ 80% đến 120%); độ lặp lại trong ngày, khác ngày với giá trị CV  $< 15,0\%$  (ngoại trừ 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 và EMA [5, 6].

### 3.2.4. Ảnh hưởng của nền mẫu

Tiến hành đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu tại hai mức nồng độ LQC và HQC trong 6 lô huyết tương khác nhau. Xác định hệ số ảnh hưởng nền cho từng chất phân tích và

chuẩn nội bằng cách xác định tỷ số giữa đáp ứng chất phân tích/IS trong các nền mẫu khác nhau và đáp ứng chất phân tích/IS trong dung môi. Xác định tỷ số của hệ số ảnh hưởng nền của chất phân tích đối với hệ số ảnh hưởng nền của

chuẩn nội tương ứng cho từng nền mẫu. Đánh giá mức độ dao động (CV%) của các tỷ số trên cho từng chất phân tích. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu được trình bày trong Bảng 5.

**Bảng 5. Kết quả ảnh hưởng của nền mẫu**

Mức nồng độ	LQC			HQC		
	MF <sub>PRX</sub>	MF <sub>IS</sub>	MF <sub>PRX</sub> /MF <sub>IS</sub>	MF <sub>PRX</sub>	MF <sub>IS</sub>	MF <sub>PRX</sub> /MF <sub>IS</sub>
1	0,965	0,939	1,027	0,951	0,952	0,999
2	0,985	0,942	1,045	0,997	0,997	1,000
3	0,961	0,925	1,038	0,994	0,994	1,000
4	0,981	0,957	1,025	1,001	0,996	1,005
5	0,969	0,966	1,003	1,031	1,034	0,998
6	1,030	0,974	1,057	1,026	1,028	0,998
<b>TB</b>	<b>0,982</b>	<b>0,951</b>	<b>1,033</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
<b>CV%</b>	<b>2,6</b>	<b>1,9</b>	<b>1,8</b>	<b>2,9</b>	<b>2,9</b>	<b>0,3</b>

Kết quả thẩm định cho thấy, ảnh hưởng nền mẫu giữa các lô huyết tương khác nhau nằm trong giới hạn cho phép (CV% < 15%), như vậy phương pháp phân tích đáp ứng các yêu cầu phân tích thuốc trong dịch sinh học.

### 3.2.5. Tỷ lệ thu hồi

Tiến hành đánh giá tỷ lệ thu hồi của paroxetin tại ba mức nồng độ LQC, SQC, MQC và HQC bằng cách so sánh tỷ lệ đáp ứng của chất phân tích/IS trong các mẫu có qua chiết tách với tỷ lệ đáp ứng tương ứng trong các mẫu không qua chiết tách. Kết quả đánh giá tỷ lệ thu hồi của paroxetin trong huyết tương được trình bày trong Bảng 6.

Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp có tỷ lệ thu hồi cao (~100%) và ổn định (CV% < 5%), đáp ứng các yêu cầu phân tích thuốc trong dịch sinh học.

**Bảng 6. Kết quả tỷ lệ thu hồi của PRX trong huyết tương**

Mức nồng độ	Tỷ lệ thu hồi (%)
LQC (n = 6)	104,5
SQC (n = 6)	101,7
MQC (n = 6)	98,3
HQC (n = 6)	96,1
<b>Trung bình</b>	<b>100,2</b>
<b>CV%</b>	<b>3,7</b>

### 3.2.6. Độ ổn định của hoạt chất

#### 3.2.6.1. Độ ổn định của hoạt chất trong dung môi

Đánh giá độ ổn định của PRX trong dung môi bằng cách so sánh đáp ứng PRX có trong mẫu được bảo quản ở những điều kiện nhất định với đáp ứng của mẫu chuẩn mới pha. Kết quả nghiên cứu độ ổn định của PRX trong dung môi được trình bày trong Bảng 7.

**Bảng 7. Kết quả nghiên cứu độ ổn định của hoạt chất trong dung môi**

Độ ổn định	Nồng độ	Thời gian ổn định
Độ ổn định dung dịch chuẩn gốc	500 µg/mL	203 ngày/2°C – 8°C ; 144 giờ 02 phút/nhiệt độ phòng
Độ ổn định các dung dịch chuẩn làm việc	10 ng/mL – 400 ng/mL	143 giờ 24 phút/nhiệt độ phòng

#### 3.2.6.2. Độ ổn định của hoạt chất trong huyết tương

Tiến hành nghiên cứu độ ổn định của PRX trên các lô mẫu ở hai mức nồng độ LQC và HQC. Đánh giá độ ổn định của PRX trong HT bằng cách so sánh nồng độ PRX có trong mẫu được bảo quản ở những điều kiện nhất định với nồng độ pha thực tế. Kết quả nghiên cứu độ ổn định của PRX trong huyết tương được trình bày trong Bảng 8.

Kết quả thẩm định cho thấy, độ ổn định trong huyết tương tại các điều kiện bảo quản khác nhau (sau 5 chu kỳ đông – rã đông; bảo quản ở nhiệt độ phòng sau 6 giờ và bảo quản ở -35°C sau 111 ngày) đáp ứng các yêu cầu về độ ổn định của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học.

**Bảng 8. Kết quả nghiên cứu độ ổn định trong huyết tương**

Độ ổn định		LQC (n = 6)	HQC (n = 6)
Sau 5 chu kỳ đông – rã đông	% độ ổn định	93,1	88,7
	CV%	9,5	1,9
Độ ổn định thời gian ngắn (6 giờ; nhiệt độ phòng)	% độ ổn định	112,6	90,5
	CV%	10,4	1,3
Độ ổn định thời gian dài (111 ngày; -35°C)	% độ ổn định	93,8	91,0
	CV%	3,0	1,7

### 3.3. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xây dựng và thẩm định được phương pháp định lượng paroxetin trong huyết tương người với giới hạn định lượng dưới rất thấp (0,05 ng/mL), thấp hơn nhiều so với một số phương pháp đã được công bố [3, 7, 8, 10].

Các phương pháp công bố trong tài liệu [3, 9] có LLOQ tương tự, tuy nhiên quy trình xử lý mẫu gồm 2 bước chiết LLE với thời gian phân tích dài > 3 phút [9] hay lượng mẫu cần để xử lý lớn (1 mL) [3]. Như vậy phương pháp được chúng tôi xây dựng có ưu điểm hơn với quy trình xử lý mẫu đơn giản với 1 bước chiết LLE, thời gian phân tích ngắn hơn (2,5 phút cho mỗi mẫu), thể tích mẫu nhỏ (300 µL) phù hợp với đặc điểm lượng mẫu hạn chế lấy được từ người.

Ngoài ra, phương pháp có khoảng tuyến tính rất rộng từ 0,05 ng/mL đến 20 ng/mL (tương ứng 400 lần từ nồng độ thấp nhất đến nồng độ cao nhất) phù hợp với đặc điểm

nồng độ trong huyết tương người của paroxetin có mức dao động rất lớn do ảnh hưởng của hiện tượng đa hình gen CYP2D6.

### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp định lượng paroxetin trong huyết tương người bằng LC/MS-MS với giá trị giới hạn định lượng dưới là 0,05 ng/mL; khoảng tuyến tính rộng từ 0,05 đến 20 ng/mL phù hợp với thông số dược động học của các chất phân tích; độ đúng, độ lặp lại đáp ứng yêu cầu đối với phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học theo quy định của US-FDA [5] và EMA [6]. Phương pháp có quy trình xử lý mẫu nhanh, đơn giản, chi phí thấp, thời gian phân tích ngắn (2,5 phút cho mỗi mẫu), phù hợp với điều kiện của phòng thử nghiệm. Phương pháp phân tích có thể ứng dụng trong các nghiên cứu đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học chế phẩm chứa paroxetin.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hội đồng Dược thư quốc gia Việt Nam. Dược thư quốc gia Việt Nam (2022), lần xuất bản thứ ba, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, trang 1275-1277.
- Massaroti P, Cassiano NM, Duarte LF, Campos DR, Marchioretto MA, Bernasconi G, Calafatti S, Barros FA, Meurer EC, Pedrazzoli J. Validation of a selective method for determination of paroxetine in human plasma by LC-MS/MS. *J Pharm Pharm Sci.* 2005 Aug 17;8(2):340-7. PMID: 16124946.
- Jhee Ok; Seo HK; Lee MH; Jeon YC; Shaw LM; Lee SH; Hur Y; Kim KH; Lee HS; Lee SE; Kang JS (2011). Determination of Paroxetine in Plasma by Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry for Pharmacokinetic and Bioequivalence Studies. *Arzneimittelforschung*, 57(7), 455–461. Doi:10.1055/s-0031-1296631
- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration: Draft Guidance on Paroxetine Hydrochloride. October 2024
- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2018). *Guidance for Industry - Bioanalytical Method Validation*.
- European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use (2012). *Guideline on Validation of Bioanalytical Methods*.
- Chi J, Kim MY, Li F (2019) Quantitation of Paroxetine in Human Plasma by LC-MS/MS: Overcoming Significant Column-to-Column Retention Time Variation. *J Chromatogr Sep Tech* 10: 419. Doi:10.4172/2157-7064.1000419
- Hiten J Shah, Mohan L Kundlik, Abhijit Kakad, Nitesh K Patel, Ankit Pandya, Vanita Khatri, Shivkumart Prajapati, Gunta Subbaiah, Chhagan N Patel, Quantification of Paroxetine in Human Plasma by Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. <https://doi.org/10.1093/jaoac/93.1.141>
- Wang M, Zhou WJ, Zhang QY, Huang M. (2013). Development and Validation of a LC-MS/MS Method. *Advanced Materials Research*. Doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.722.255.
- López-Calull C, Dominguez N, Determination of paroxetine in plasma by high-performance liquid chromatography for bioequivalence studies, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, ISSN 0378-4347. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(98\)00560-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(98)00560-X)