

GC-MS 法测定缬沙坦药品中 5 种 N- 亚硝胺含量

GCMS-401

摘要： 本文利用 GCMS-QP2020 NX 气相色谱质谱联用仪建立了缬沙坦药品中 NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA、NDBA 含量的检测方法。在 2~1000 ng/mL 浓度范围内 5 种物质线性关系良好，线性相关系数均大于 0.999。取浓度为 5 ng/mL 标准溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD% 均小于 5.5%。实际样品中检出了 NEIPA 与 NDBA 两种物质，三个浓度水平加标回收率为 84.9~103.8 %。该方法为缬沙坦中 5 种 N- 亚硝胺的检测提供了参考。

关键词： 气相色谱质谱联用仪 缬沙坦 N- 亚硝胺

遗传毒性杂质是近年来化药质量控制比较关注的一类物质。该类物质会直接或间接损伤细胞 DNA，产生致突变和致癌效果。

遗传毒性杂质的种类很多，而 N- 亚硝胺类杂质是近年来出现频率较高的一类。从 2018 年 7 月开始，世界卫生组织 (WHO)、FDA、欧洲药品监督管理局 (EDQM) 以及其他监管机构和全球卫生机构相继发布了关于几种药品中 N- 亚硝胺杂质的指导文件和公共卫生警报，最新的美国药典也增加了亚硝胺杂质的章节。

缬沙坦是高血压治疗领域的主流产品，也是全球市场上最大一类抗高血压的药物。近年来该药物曾被报道检出 NDMA 这种 N- 亚硝胺类杂质，引发业内震动。由于缬沙坦这类高血压药物需要长期服用，因此对其中遗传毒性杂质的含量要求应更为严格，对检测方法的灵敏度也提出了较高要求。

本文采用岛津 GCMS-QP2020 NX 建立了缬沙坦药物中 5 种 N- 亚硝胺类物质的检测方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

气质联用仪：GCMS-QP2020 NX

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rtx-Wax 30 m×0.25 mm×0.5 μm

进样口温度：250 °C

程序升温：60°C (0.5 min)_15°C /min_150 °C _
20°C /min_240°C (8 min)

离子源温度：230 °C

接口温度：230 °C

进样模式：不分流

进样量：1 μL

载气控制方式：恒线速度 (51.6 cm/sec)

检测器电压：调谐电压 +0.1 kV

采集模式：SIM (具体采集参数见表 1)

1.3 样品前处理方法

精密称取供试品约 0.2 g(以原料药计)至 10 mL 离心管中，加入 2 mL 二氯甲烷，涡旋提取 1 min，4000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜，上机分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准品色谱图

分析 5 种 N- 亚硝胺标准混合溶液，浓度为 5 ng/mL，得到各化合物的质量色谱图如图 1 所示，具体化合物信息如表 1 所示。

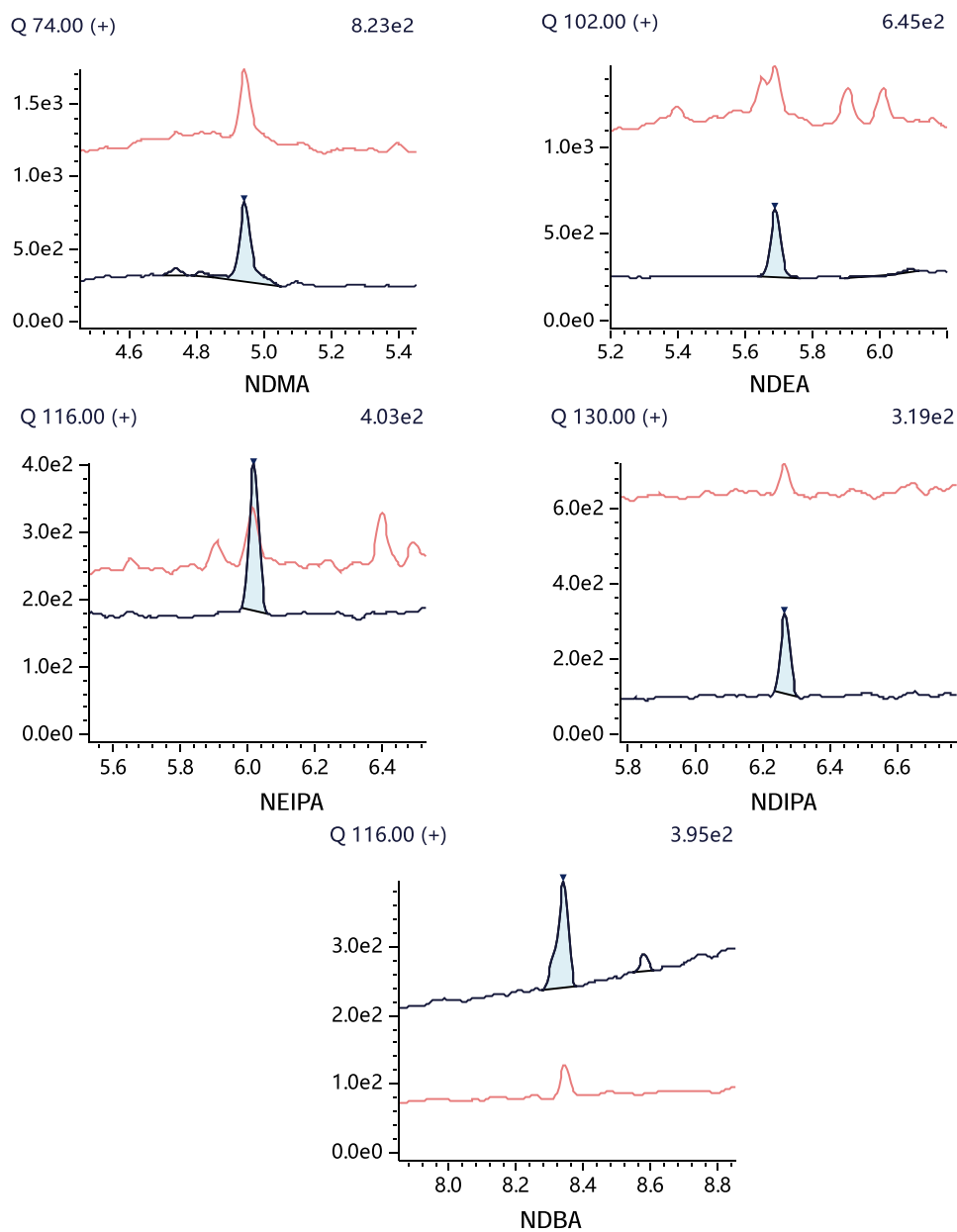


图 1 5 种 N-亚硝胺组分质量色谱图 (5 ng/mL)

表 1 化合物信息表

No.	化合物名称	简称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	N-亚硝基二甲基胺	NDMA	62-75-9	4.940	74	42
2	N-亚硝基二乙基胺	NDEA	55-18-5	5.690	102	57
3	N-亚硝基乙基异丙基胺	NEIPA	16339-04-1	6.019	116	99
4	N-亚硝基二异丙基胺	NDIPA	601-77-4	6.266	130	88
5	N-亚硝基二正丁胺	NDBA	924-16-3	8.340	116	158

2.2 校准曲线及检出限

以二氯甲烷为溶剂配制标准溶液，浓度为 2、5、10、30、50、100、200、500 和 1000 ng/mL，以各目标物浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以外标法绘制标准曲线，所得校准曲线线性关系良好，线性相关系数大于 0.999，校准曲线如图 2 所示。根据 2 ng/mL 标准溶液信噪比计算仪器检出限和定量限，具体结果如表 2 所示。

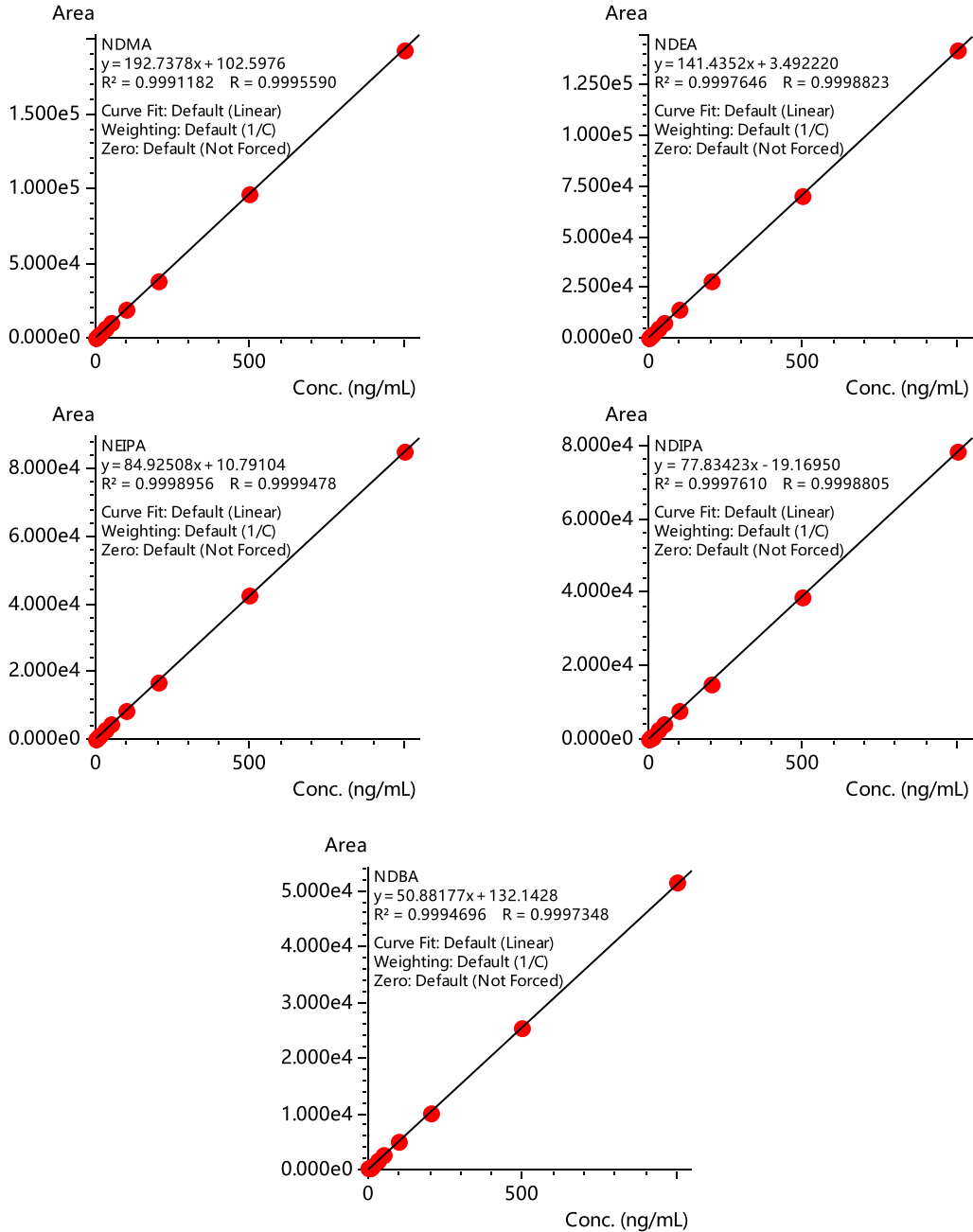


图 2 5 种 N-亚硝胺组分标准曲线

表 2 标准曲线相关系数及仪器检测限、定量限

序号	化合物名称	相关系数 R	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	NDMA	0.9996	0.21	0.69
2	NDEA	0.9999	0.20	0.67
3	NEIPA	0.9999	0.24	0.79
4	NDIPA	0.9999	0.28	0.94
5	NDBA	0.9997	0.19	0.63

2.3 重复性考察

取浓度为 5 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3

表 3 重复性测试 (n=6)

No.	化合物名称	面积 1	面积 2	面积 3	面积 4	面积 5	面积 6	RSD (%)
1	NDMA	1214	1347	1290	1329	1223	1180	5.37
2	NDEA	757	755	817	851	784	809	4.70
3	NEIPA	436	445	446	476	466	458	3.28
4	NDIPA	404	386	392	386	411	406	2.74
5	NDBA	386	388	383	382	394	415	3.16

2.4 加标回收实验

检测市售的缬沙坦药品，药品中检出了 NEIPA 与 NDBA 两种物质。对此药品进行三个浓度水平的加标实验，回收率结果如表 4 所示。

表 4 药品加标实验结果

化合物名称	样品含量 (µg/g)	加标 (0.5 µg/g)		加标 (1 µg/g)		加标 (2 µg/g)	
		测试值 (µg/g)	回收率 (%)	测试值 (µg/g)	回收率 (%)	测试值 (µg/g)	回收率 (%)
NDMA	N.D.	0.478	95.6	0.936	93.6	2.047	102.4
NDEA	N.D.	0.504	100.7	0.961	96.1	2.029	101.4
NEIPA	1.04	1.515	94.9	1.890	84.9	2.863	91.1
NDIPA	N.D.	0.477	95.4	0.926	92.6	1.949	97.4
NDBA	7.43	7.960	103.8	8.384	94.3	9.373	96.6

注：N.D. 表示未检出。

■ 结论

本文利用岛津 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪，建立了一种缬沙坦中 5 种 N-亚硝胺的分析方法。该方法在 2~1000 ng/mL 浓度范围内 5 种物质线性关系良好，线性相关系数均大于 0.999。取浓度为 5 ng/mL 标准溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD% 均小于 5.5%。实际样品中检出了 NEIPA 与 NDBA 两种物质，三个浓度水平加标回收率为 84.9~103.8 %。该方法简便、快速，为缬沙坦中 NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA、NDBA 的检测提供了参考。

岛津应用云

