

# GCMSMS 法测定缬沙坦原料药中遗传毒性杂质 NDMA 和 NDEA

## GCMSMS-157

**摘要：**本文利用岛津 GCMS-TQ8040NX 三重四极杆气质联用仪，建立了缬沙坦原料药中遗传毒性杂质 N-亚硝基二甲胺 (NDMA)、N-亚硝基二乙胺 (NDEA) 的液体进样检测方法。在 2.5~300  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内 NDMA、NDEA 线性关系良好，相关系数均达到 0.999 以上。2.5  $\mu\text{g/L}$  标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 小于 4.60%。实际样品加标回收率为 86.6%~123.3%。方法简单、抗干扰能力强，灵敏度高，满足原料药中痕量杂质成分的检测。

**关键词：**GCMS-TQ8040 NX 缬沙坦 原料药 遗传毒性杂质 NDMA NDEA

亚硝基化合物是一类强致癌有机化合物，亚硝胺化合物由前体物质硝酸盐、亚硝酸盐和胺类通过化学或生物学途径合成。这类物质广泛存在于食品、饮用水、外界环境中。根据 ICH M7 通则对基因毒性杂质的分类，NDMA 应属于【第一类：已知的、具有基因毒性（突变性）和致癌性的物质。控制不高于化合物可接受限度 (AI)】。根据 WHO 的数据，NDMA 的 AI 值为 0.005-0.016  $\mu\text{g/kg}$ ，换算后为 0.375-1.2  $\mu\text{g/天}$ 。

缬沙坦属于血管紧张素 II 受体拮抗剂（沙坦类，

ARB），是多年来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药物。近期，缬沙坦原料药中出现 NDMA 杂质，引发社会关注。值得注意的是对于高血压患者来说，缬沙坦等抗高血压药物需要长期服用，所以对其中的遗传毒性杂质检测要求更为严格。由于药品中的 NDMA、NDEA 含量极微，这就对检测方法灵敏度提出了更高的要求。

本文采用岛津 GCMS-TQ8040 NX 建立了缬沙坦原料药中遗传毒性杂质 NDMA、NDEA 的检测方法。

## 实验部分

### 1.1 仪器

GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱 - 质谱联用仪

### 1.2 分析条件

色谱柱：Rtx-WAX (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ )

柱温程序：40  $^{\circ}\text{C}$  (1 min)\_10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \_120  $^{\circ}\text{C}$   
\_30  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \_240  $^{\circ}\text{C}$  (5 min)

进样口温度：250  $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式：恒线速度方式

线速度：44.2 cm/sec

进样方式：不分流进样

高压进样：250 kPa (1 min)

离子化方式：EI

离子源温度：230  $^{\circ}\text{C}$

色谱质谱接口温度：250  $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.5 kV

采集模式：MRM，离子信息见表 1

### 1.3 样品前处理

准确称取 0.5 g 样品于 15mL 离心管中，加入 5 mL 二氯甲烷溶液，10  $\mu\text{L}$  50 mg/L 的 NDMA-D6 内标溶液，涡旋混匀 1 min，将混匀的样品转移至离心管中，4000 rpm 离心 2.5 min，用注射器吸取约 2 ml 上清液经 0.45 $\mu\text{m}$  尼龙滤膜过滤至 2 ml 进样小瓶中，直接上 GCMSMS 分析。

## 结果与讨论

### 2.1 标准溶液谱图

标准溶液 MRM 图见图 1，各组分 MRM 图见图 2。

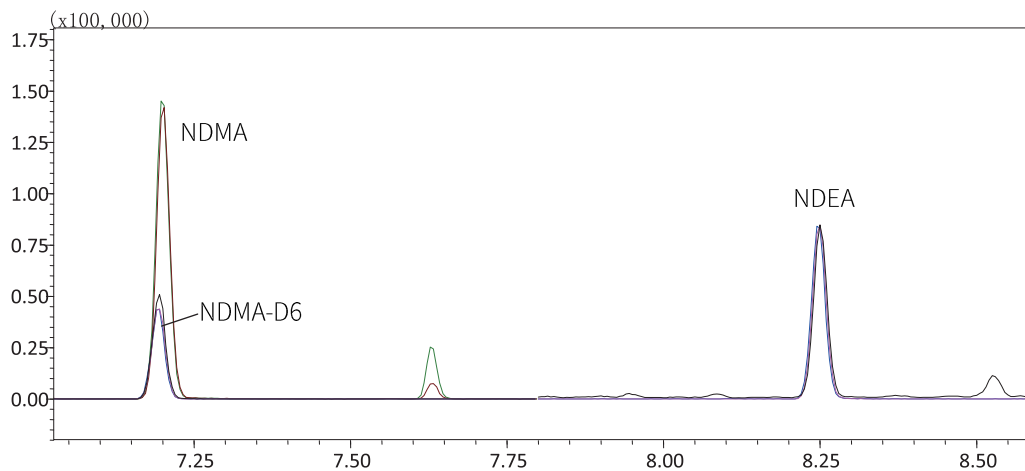


图1 标准溶液TIC图 (300 µg/L)

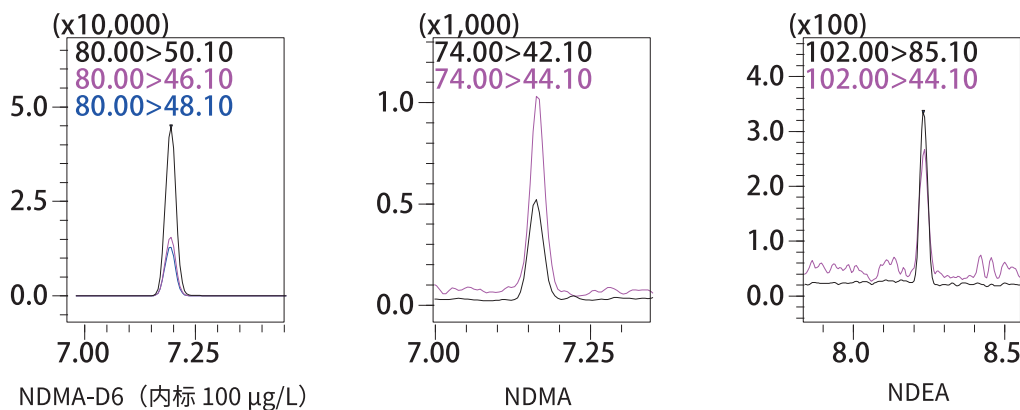


图2 各组分MRM图 (2.5 µg/L)

表1 各组分信息

No.	名称	CAS号	保留时间(min)	定量离子对	CE	定性离子对1	CE	定性离子对2	CE
1	NDMA- D6	17829-05-9	7.156	80.00>50.1	6	80.00>46.10	24	80.00>48.10	12
2	NDMA	62-75-9	7.161	74.00>42.10	21	74.00>44.10	6		
3	NDEA	55-18-5	8.234	102.00>85.1	6	102.00>44.1	12		

### 2.2 标准曲线和检出限

分别配制浓度为 2.5、5、10、25、50、80、100、300 µg/L 的混合标准溶液，加入 NDMA-D6 作为内标，使内标浓度为 100 µg/L，取 1µL 进样，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标绘制标准曲线，化合物标准曲线如图 3 所示。使用 2.5 µg/L 标样，对仪器灵敏度进行测试，信噪比结果、线性相关系数见表 2。

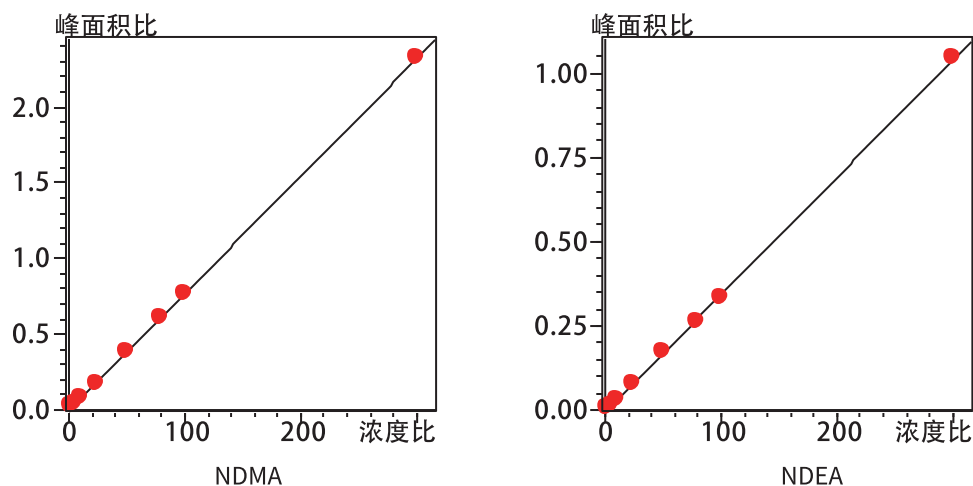


图3 化合物标准曲线

表2 相关系数及灵敏度测试结果

ID	组分名称	相关系数 (R)	2.5 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液信噪比ASTM
1	NDMA	0.9999	23.39
2	NDEA	0.9998	35.81

### 2.3 重复性实验

取 2.5  $\mu\text{g/L}$  标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表3 重复性测试结果

No	组分	面积 1	面积 2	面积 3	面积 4	面积 5	面积 6	RSD (%)
1	NDMA	772	756	768	705	776	770	3.52
2	NDEA	552	520	552	563	508	572	4.60

### 2.4 加标回收率

对 6 个缬沙坦原料药样品进行 25 ng/g、250 ng/g、500 ng/g 加标，NDMA 结果见表 4，NDEA 结果见表 5。

表4 NDMA样品测试及回收率结果

No.	样品测试 结果 (ng/g)	加标量 (25 ng/g)		加标量 (250 ng/g)		加标量 (500ng/g)	
		加标测试结果 (ng/g)	加标回收率 (%)	加标测试结果 (ng/g)	加标回收率 (%)	加标测试结果 (ng/g)	加标回收率 (%)
1	0.00	23.15	92.58	233.93	93.57	540.35	108.07
2	0.00	29.10	116.40	230.20	92.08	526.28	105.26
3	0.00	26.82	107.26	240.28	96.11	511.59	102.32
4	13.61	35.26	86.60	233.40	87.92	630.04	123.28
5	0.00	27.51	110.05	244.53	97.81	519.38	103.88
6	0.00	22.59	90.37	232.90	93.16	545.94	109.19

表5 NDEA样品测试及回收率结果

No.	样品测试 结果 (ng/g)	加标量 (25 ng/g)		加标量 (250 ng/g)		加标量 (500 ng/g)	
		加标测试结果 (ng/g)	加标回收率 (%)	加标测试结果 (ng/g)	加标回收率 (%)	加标测试结果 (ng/g)	加标回收率 (%)
1	7.71	39.31	126.41	257.72	100.00	535.35	105.53
2	10.69	40.51	119.27	266.07	102.15	521.41	102.14
3	13.05	37.08	96.12	260.60	99.02	506.86	98.76
4	12.47	37.09	98.51	255.30	97.13	624.21	122.35
5	0.00	24.18	96.71	253.50	101.40	514.58	102.92
6	0.00	27.55	110.18	234.99	94.00	540.89	108.18

## 结论

本方法采用岛津 GCMS-TQ8040 NX 液体进样检测遗传毒性杂质 NDMA、NDEA，在 2.5~300  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内标准曲线线性良好，相关系数均在 0.999 以上。2.5  $\mu\text{g/L}$  标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 小于 4.60%，精密度良好。对 6 个样品进行低、中、高浓度加标，加标回收率为 86.6%~123.3%。该方法简单方便，灵敏度好，满足缬沙坦原料药中痕量遗传毒性杂质 NDMA、NDEA 的检测。