

GC-MS/MS 法测定二甲双胍药品中 NDMA 含量

GCMSMS-186

摘要： 本文使用岛津公司 GCMS-TQ8050 NX 建立了一种检测二甲双胍药品中 N-亚硝基二甲胺（NDMA）的方法。在浓度范围 0.25~100 ng/mL 线性关系良好，相关系数为 0.9990，0.25 ng/mL 标液信噪比（S/N）为 14.5。0.5、1 和 5 ng/mL 标液分别平行进样 6 次，峰面积 RSD% 分别为 4.03、3.30 和 2.76%。某二甲双胍成品药中 NDMA 检测平均值为 13.6 ng/g。20、40 和 100 ng/g 三个浓度水平加标平均回收率分别为 85.0、87.0 和 86.6%。该方法灵敏度高重复性好，可以很好的应用于二甲双胍原料药及成品药中 NDMA 含量的检测。

关键词： 三重四极杆气相色谱质谱联用仪 二甲双胍 NDMA

N-亚硝基二甲胺（N-Nitrosodimethylamine, NDMA）是一种遗传毒性杂质，在 ICH M7 指南中明确该化合物具有较高致癌性，对实验动物致癌性证据充分。

最近两年该物质屡屡在化学药品中被发现，造成行业内重大影响。2018 年 7 月 NDMA 在治疗高血压的药物缬沙坦中被发现，2019 年 9 月治疗胃酸分泌疾病的药物雷尼替丁中也发现该物质，2019 年 12 月有

报道称治疗糖尿病的药物二甲双胍中可能含有不安全水平的 NDMA，FDA 随即开始着手检测美国市场的二甲双胍中 NDMA 的污染情况。

目前 NDMA 的检测方法有顶空 +GCMS 方法、GCMS 法、GC-MS/MS 法、LC-MS/MS 法，需要根据各种药物的物理与化学性质以及限量要求选择合适的方法。本文采用盐酸溶液溶解，二氯甲烷萃取，GC-MS/MS 检测，建立了二甲双胍中 NDMA 的检测方法。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质谱联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rtx-Wax, 30 m×0.25 mmID×
0.5 μm

流速控制方式：恒线速度方式

线速度：51.6 mL/min

进样方式：不分流

离子化方式：EI

柱温程序：60 °C (0.5 min)_15 °C /min_ 150 °C
20°C /min 240°C (2 min)

离子源温度：230°C

色谱质谱接口温度：230°C

检测器电压：调谐电压 +0.8 kV

采集模式：MRM，离子信息见表 1

样品前处理

称取二甲双胍原料药 0.5 g，如果是成品药则先将药品粉碎均匀再称取含二甲双胍有效成分 0.5 g 的样品，记录精确质量。加入 1N 盐酸溶液 10mL，振摇并涡旋使之溶解（成品药可能会有少量残渣不溶，不影响检测），加入二氯甲烷 10 mL，充分振摇，涡旋 1 min，5000 rpm 离心 8 min，吸取下层有机相经 0.22μm 滤膜过滤，收集滤液约 1mL，待测。

结果与讨论

3.1 NDMA 谱图

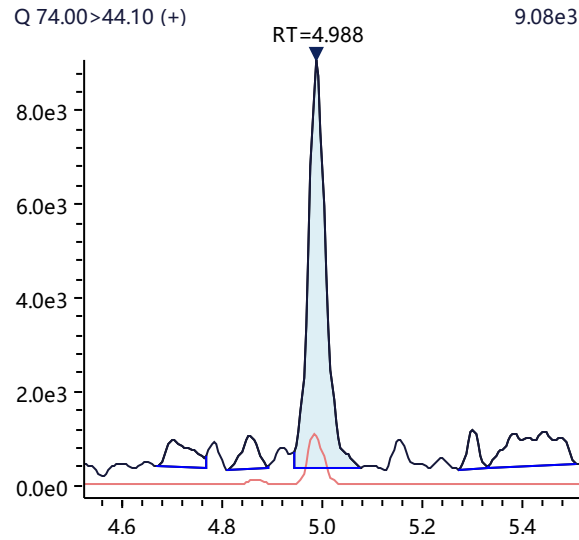


图 1 NDMA 质量色谱图 (0.25 ng/mL)

表 1 NDMA 组分信息

中文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子对	定性离子对
N-亚硝基二甲胺	62-75-9	4.988	74.00>44.10	74.00>42.10

3.2 标准曲线和灵敏度

配制 8 个不同浓度的标准品溶液，制作校准曲线，含量分别为 0.25、0.5、1、5、10、20、50 和 100 ng/mL。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，标准曲线如图 2 所示。线性相关系数及 0.25 ng/mL 标液信噪比如表 2 所示。

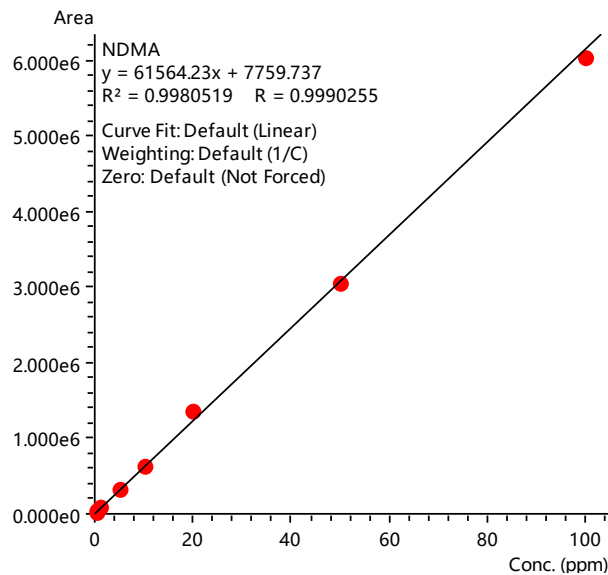


图 2 NDMA 标准曲线 (0.25~100 ng/mL)

表 2 NDMA 线性相关系数及信噪比 (0.25 ng/mL)

组分名称	相关系数 (R)	S/N
NDMA	0.9990	14.5

3.3 重复性实验

取浓度为 0.5、1、5 ng/mL 的 NDMA 标准溶液，分别重复进样 6 次，各浓度水平 RSD% 见表 3。

表 3 NDMA 重复性结果 (n=6)

浓度 (ng/mL)	峰面积						RSD%
	1	2	3	4	5	6	
0.5	39,550	37,822	42,398	40,576	41,752	40,231	4.03
1	86,238	84,742	84,472	78,887	86,369	83,050	3.30
5	333,760	321,949	326,196	321,469	345,785	329,887	2.76

3.4 加标回收率

以某品牌的二甲双胍成品药为检测对象，平行检测 6 次，检测结果如表 4 所示。以此样品为本底进行加标实验，分别加标 20、40、100 ng/g，每个加标水平平行检测 6 次，检测结果如表 5 所示。

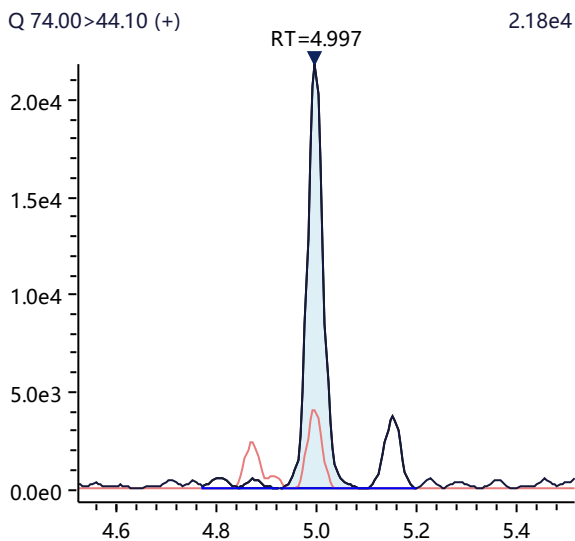


图 3 二甲双胍成品药检测谱图

表 4 二甲双胍成品药 NDMA 检测结果

样品检测值 (ng/g)						RSD%	平均值 (ng/g)
1	2	3	4	5	6		
13.6	13.8	12.4	14.2	14.0	14.2	4.50	13.6

表 5 二甲双胍成品药 NDMA 加标检测结果

加标浓度 (ng/g)	本底值 (ng/g)	加标检测值 (ng/g)						平均值 (ng/g)	RSD%	回收率 (%)
		1	2	3	4	5	6			
20	13.6	28.6	31.0	29.6	32.0	31.2	30.8	30.6	3.94	85.0
40	13.6	45.8	47.0	49.8	47.0	50.6	50.4	48.4	4.39	87.0
100	13.6	101.2	98.8	101.4	99.4	99.0	100.8	100.2	1.20	86.6

■ 结论

本方法采用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪建立了一种检测二甲双胍药品中 N-亚硝基二甲胺 (NDMA) 的方法。在浓度范围 0.25~100 ng/mL 线性关系良好, 相关系数 R 为 0.9990, 0.25 ng/mL 标液信噪比为 14.5。0.5、1 和 5 ng/mL 标液分别平行检测 6 次, 峰面积 RSD% 分别为 4.03、3.30 和 2.76%。对某品牌二甲双胍成品药中 NDMA 含量进行了检测, 测得含量为 13.6 ng/g。20、40 和 100 ng/g 三个浓度水平加标平均回收率分别为 85.0、87.0 和 86.6%。该方法灵敏度高重复性好, 可以很好的应用于二甲双胍原料药及成品药中 NDMA 含量的检测。