

# GCMSMS 法测定原料药中 6 种亚硝胺类化合物含量

## GCMSMS-264

**摘要：** 本文利用岛津 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气质联用仪，建立了一种原料药中 6 种亚硝胺类化合物的测定方法。在 0.05-20  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内各组分线性关系良好，各组分相关系数均达到 0.9995 以上，仪器检出限在 0.004-0.266  $\mu\text{g/L}$  之间。校准曲线次低浓度点标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 4.3 %。实际样品在 10  $\text{ng/g}$  的加标浓度下，各物质的加标回收率为 81.77 %-96.2 %。该方法简单方便，能够有效的监测原料药中 6 种亚硝胺类物质的含量。

**关键词：** 三重四极杆气质联用仪 原料药 基因毒性杂质 亚硝胺

### 技术特点：

- ❖ 样品经溶剂提取离心过膜后上机分析，前处理简单方便。
- ❖ 6 种亚硝胺类物质在 WAX 色谱柱上分离良好，灵敏度高。

药品原料药和制剂的生产过程中，不可避免地会产生或引入影响药物稳定性甚至威胁人类健康的杂质，比如在血管紧张素受体拮抗剂 (ARB)、雷尼替丁及其他药物中发现潜在致癌物 - 亚硝胺杂质。

亚硝胺类物质在几种动物中是高效基因毒性杂质，NDMA 和 NDEA 被世界卫生组织 (WHO) 国际癌症研究机构判定为 2A 类致癌物，ICH M7(R1) 指南中明确指出该类物质具有较高致癌性 (“关注队列”)，属于高诱变致癌物。FDA 建议的亚硝胺杂质 NDMA, NDEA,

NMBA, NMPA, NIPEA 和 NDIPA 的可接受摄入量 (AI 限值) NDMA、NMBA 为 96  $\text{ng/天}$ ，NDEA、NMPA、NIPEA、NDIPA 为 26.5  $\text{ng/天}$ 。因此，非常有必要对药品中的亚硝胺类物质进行监测，从而保证药品的安全。

本文采用二氯甲烷溶液对原料药进行提取，结合 MRM 采集方法，建立了一种快速、准确分析原料药中 6 种亚硝胺类物质的检测方法，该方法简单方便、检出限低、重现性好，可以为原料药中亚硝胺类物质的检测提供参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

GCMS-TQ8040 NX 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪

### 1.2 分析条件

色 谱 柱：	VF-WAX MS(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 1 $\mu\text{m}$ )
柱 温 程 序：	40 $^{\circ}\text{C}$ (0.5 min)_20 $^{\circ}\text{C}$ /min_200 $^{\circ}\text{C}$ _60 $^{\circ}\text{C}$ /min_250 $^{\circ}\text{C}$ (3 min)
进 样 口 温 度：	240 $^{\circ}\text{C}$
流 速 控 制 方 式：	恒线速度方式
线 速 度：	36.1 mL/min
进 样 方 式：	不分流进样
进 样 量：	1 $\mu\text{L}$
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 +0.7 kV
采 集 模 式：	MRM, 离子信息见表 1

## ■ 样品前处理

准确称取 0.5 g 药品至 15 mL 离心管中，加入 5 mL 二氯甲烷溶液，涡旋 1 min 后，4000 r/min 离心 5 min，取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜过滤后，GC-MS/MS 分析。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 6种亚硝酸胺标准溶液谱图

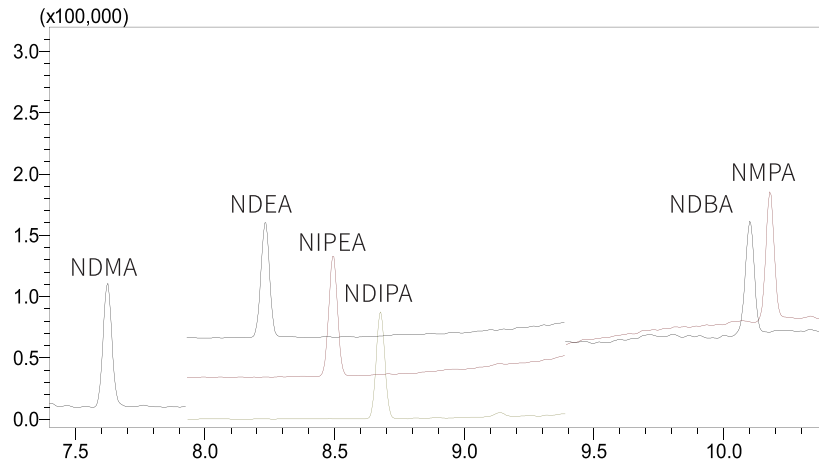


图1 6种亚硝酸胺标准溶液色谱图 (20 μg/L)

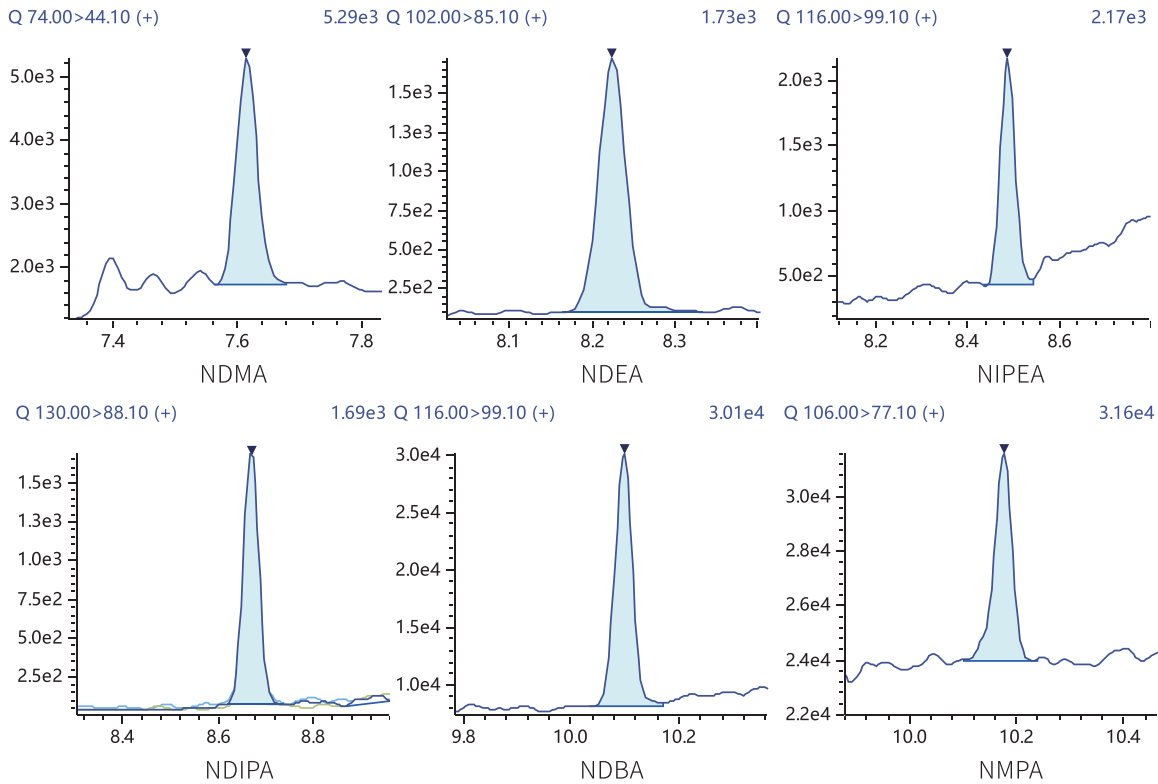


图2 6种亚硝酸胺标准品溶液质量色谱图 (0.1-1 μg/L)

表 1 6 种亚硝酸胺各组分信息

No.	组分名称	简称	CAS 号	保留时间	定量离子对	CE(V)	定性离子对	CE(V)
1	N- 二甲基亚硝酸胺	NDMA	62-75-9	7.62	74.00>44.10	6	74.00>42.10 74.00>59.00	21 18
2	N- 亚硝基二乙胺	NDEA	55-18-5	8.23	102.00>85.10	6	102.00>44.10 102.00>56.10	15 15
3	N- 亚硝基异丙基乙胺	NIPEA	16339-04-1	8.49	116.00>99.10	6	71.00>56.10 116.00>70.10	6 18
4	N- 亚硝二异丙胺	NDIPA	601-77-4	8.67	130.00>88.10	6	130.00>113.10 130.00>42.10	3 9
5	N- 亚硝基二丁胺	NDBA	924-16-3	10.10	116.00>99.10	6	158.00>141.20 116.00>74.10	6 9
6	N- 甲基 -N- 亚硝基苯胺	NMPA	614-00-6	10.18	106.00>77.10	18	106.00>79.10 107.00>77.10	9 27

### 3.2 标准曲线和检出限

分别配制不同浓度的亚硝酸胺混合标准溶液，取 1  $\mu\text{L}$  进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，各化合物标准曲线如图 3 所示。根据线性最低点标样数据，以 3 倍信噪比（峰至峰）计算 6 种亚硝酸胺仪器检出限，各化合物校准曲线梯度、检出限以及线性相关系数如表 2 所示。

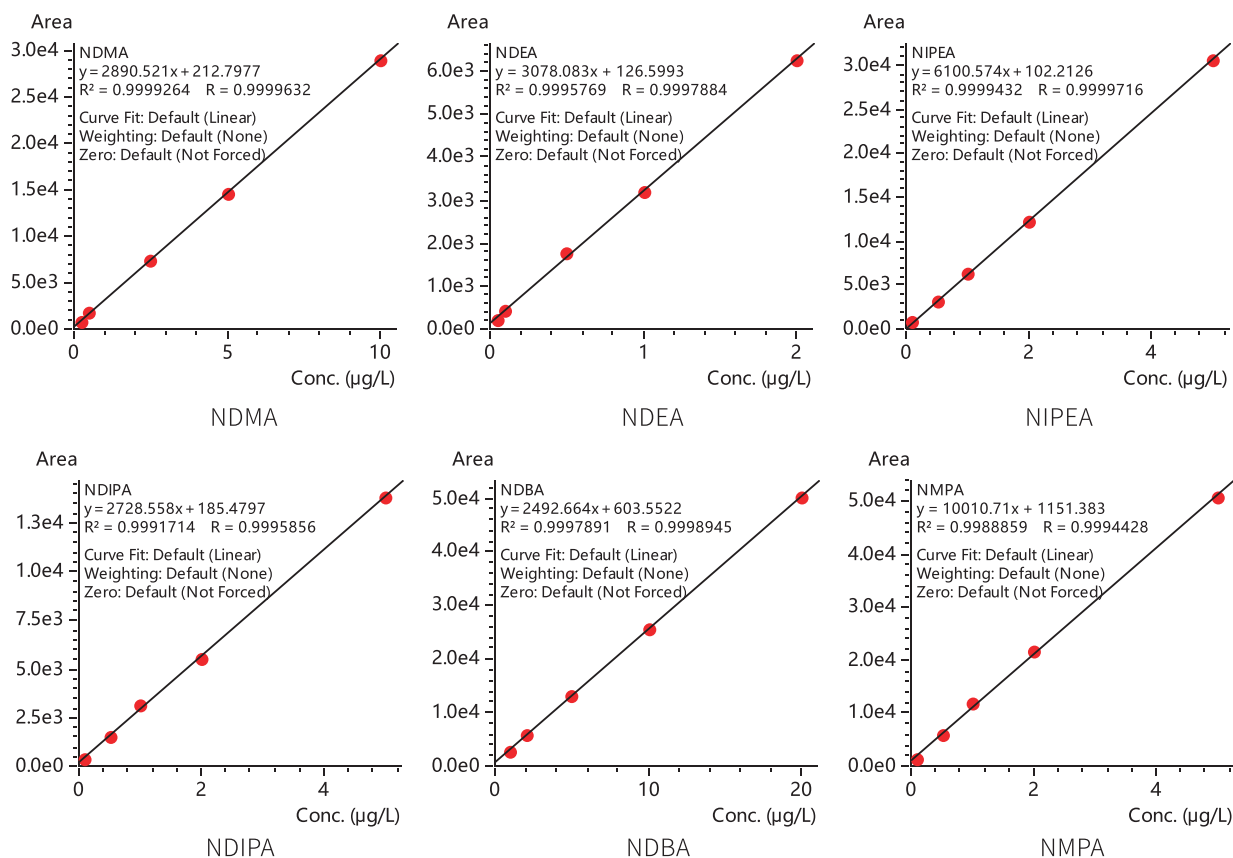


图 3 6 种亚硝酸胺标准曲线

表 2 各组分校准曲线相关系数及检出限

No.	组分名称	浓度范围 (μg/L)	相关系数 (R)	检出限 (μg/L)
1	NDMA	0.25、0.5、2.5、5、10	0.9999	0.035
2	NDEA	0.05、0.1、0.5、1、2	0.9997	0.004
3	NIPEA	0.1、0.5、1、2、5	0.9999	0.009
4	NDIPA	0.1、0.5、1、2、5	0.9995	0.008
5	NDBA	1、2、5、10、20	0.9998	0.266
6	NMPA	0.1、0.5、1、2、5	0.9994	0.049

### 3.3 重复性实验

取次低浓度点标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表 3 6 种亚硝胺类物质重复性结果

No.	组分名称	峰面积						RSD(%)
		1	2	3	4	5	6	
1	NDMA	29938	29943	29600	29451	29835	30535	1.25
2	NDEA	5487	5372	5208	5256	5549	5582	2.87
3	NIPEA	3190	3289	3281	3032	3356	3309	3.60
4	NDIPA	4620	4613	5050	4579	4641	4794	3.81
5	NDBA	91491	91387	93196	92226	91924	96159	1.94
6	NMPA	10514	11478	10818	10710	11723	10904	4.27

### 3.4 加标回收率

准确称取某实际原料药样品 0.5 g，添加 6 种亚硝胺混标，加标浓度为 10 ng/g，平行处理 3 份，样品测定结果以及加标回收率结果见表 4。

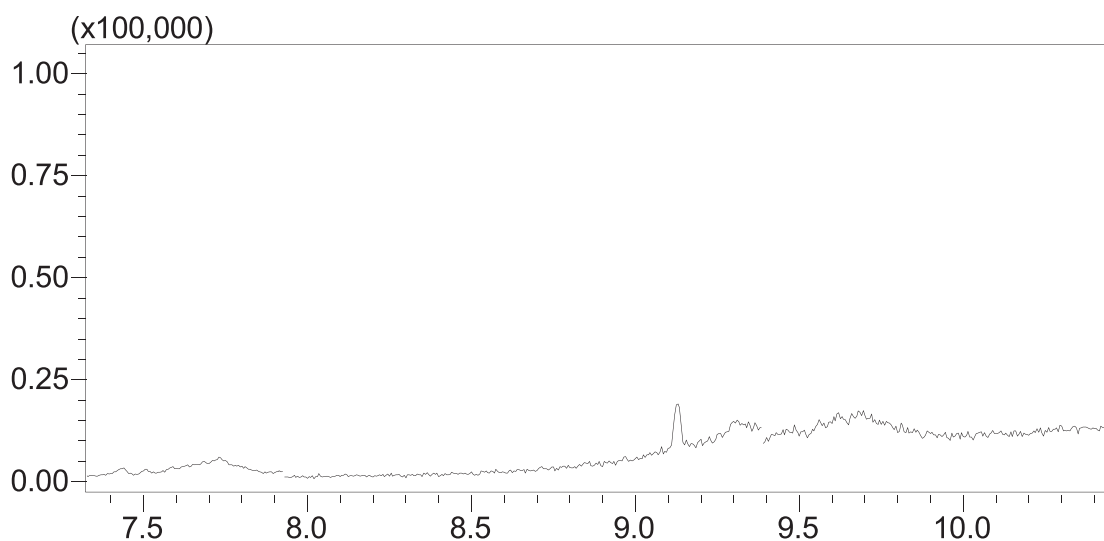


图 4 实际原料药样品谱图

表 4 各组分添加回收率结果

No.	化合物名称	样品含量 (ng/g)	加标样品含量 (ng/g)			平均回收率 (%)
			1	2	3	
	NDMA	N.D	10.9	7.49	10.4	96.2
2	NDEA	N.D	8.20	8.29	8.74	84.1
3	NIPEA	N.D	8.04	8.11	8.37	81.7
4	NDIPA	N.D	8.27	8.43	9.41	87.0
5	NDBA	N.D	9.56	8.53	8.95	90.1
6	NMPA	N.D	9.00	7.66	10.9	91.7

注：N.D 表示未检出。

## ■ 结论

本方法采用岛津 GCMS-TQ8040 NX 检测原料药中 6 种亚硝胺类物质，各物质在对应浓度范围内标准曲线线性良好，相关系数均在 0.9995 以上，仪器检出限在 0.004-0.266  $\mu\text{g/L}$  之间。校准曲线次低浓度点的标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 4.3%，重复性良好。在 10 ng/g 加标浓度下，各物质实际样品的加标回收率为 81.77%-96.2%。该方法简单方便，能够有效测定原料药中亚硝胺的含量。

岛津应用云

