

GC-MS/MS 法检测回收溶剂中 6 种亚硝胺类遗传毒性杂质

GCMSMS-268

摘要： 本文利用三重四极杆气相色谱质谱联用仪，建立了回收溶剂中 6 种亚硝胺类遗传毒性杂质的检测方法。6 种亚硝胺在 1~200 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数均在 0.999 以上。取浓度为 1 ng/mL 的标准溶液连续进样 6 针，6 种亚硝胺峰面积重复性均在 5% 以下。加标实验中，以 10 ng/g 与 20 ng/g 为加标浓度，四种回收溶剂 6 种亚硝胺平均回收率在 97.43%~108.87% 之间。该方法灵敏度高、重复性好，可以为监控药物生产中使用的回收溶剂中的亚硝胺类遗传毒性杂质提供可靠的检测方法。

关键词： GC-MS/MS 回收溶剂 亚硝胺 遗传毒性杂质

技术特点：

- ❖ 一次进样，可以同时检测 6 种亚硝胺类遗传毒性杂质。
- ❖ 实现了药物生产使用的回收溶剂中亚硝胺类遗传毒性杂质的检测。

近年来化药中检出亚硝胺类遗传毒性杂质的新闻屡有报道。经过调查发现，在酸性条件下，胺类化合物与亚硝酸盐可反应产生亚硝胺。

药品中的亚硝胺可能源于药物生产各个环节，可能是原料、中间体、催化剂等物料在合成中的副反应产生，也可能是源自使用了受污染的溶剂。根据 FDA 与 EMA 的指导原则，药品生产过程中使用的有机溶剂是亚硝胺杂质的潜在根源之一。因此对药物生产中使用有

机溶剂中亚硝胺类遗传毒性杂质的种类、含量测定和成因分析，已成为制药行业关注的重点。

本文使用岛津三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8040 NX，建立了回收溶剂中 6 种亚硝胺类遗传毒性杂质的检测方法。该方法灵敏度高、重复性好，可以为监控药物生产中使用的回收溶剂中的亚硝胺类遗传毒性杂质提供可靠的检测方法。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8040 NX 气质联用仪

1.2 分析条件

色谱柱	: SH-Rtx-Wax, 30 m×0.25 mm×0.50 μm		
柱温程序	: 60°C (0.5 min)_15°C /min_150°C _20°C /min_240°C (2 min)		
进样口温度	: 250°C	离子化方式	: EI
流速控制方式	: 恒线速度	离子源温度	: 230°C
线速度	: 51.6 cm/s	接口温度	: 230°C
进样方式	: 不分流进样	检测器电压	: 调谐电压 +0.8 kV
进样量	: 1 μL	采集模式	: MRM, 离子信息见表 1

1.3 样品前处理

吸取 100 mg 回收溶剂（根据不同溶剂的密度吸取相应体积），加入色谱纯级二氯甲烷混合使总体积为 1 mL，将此样品溶液上机检测。

■ 结果与讨论

2.1 6种亚硝胺类遗传毒性杂质质量色谱图

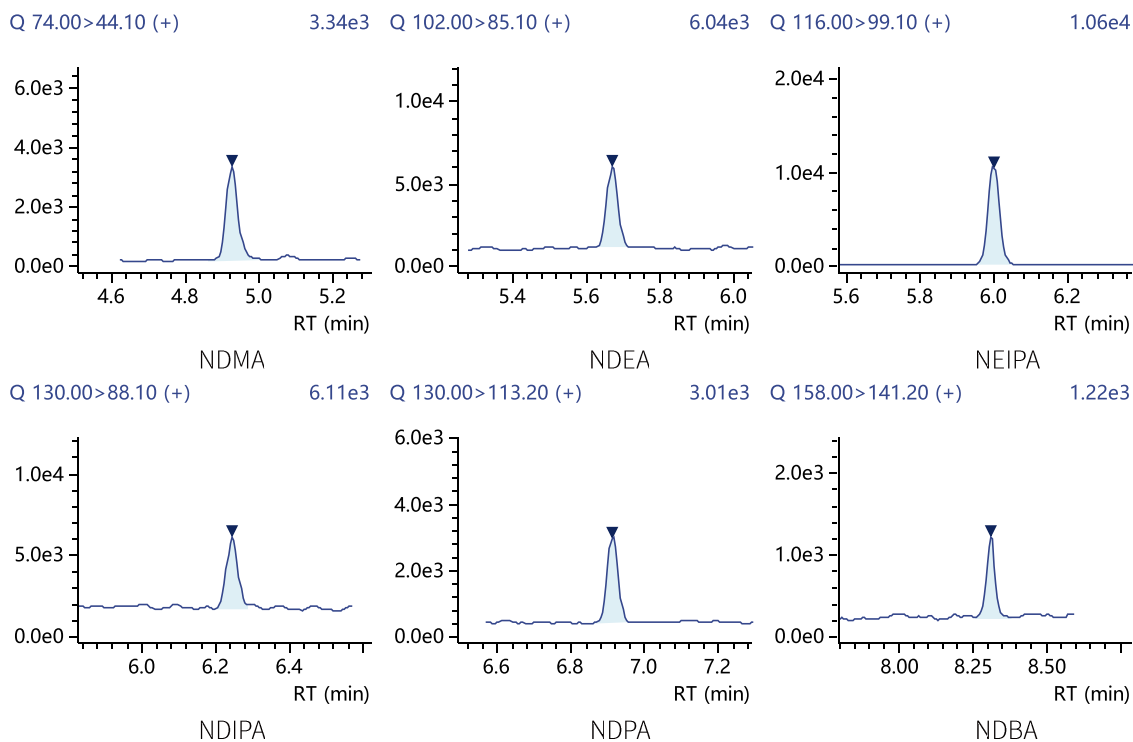


图 1 6种亚硝胺标准溶液质量色谱图 (1 ng/mL)

表 1 化合物信息

No.	化合物名简写	化合物英文名	CAS 号	保留时间 W(min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	NDMA	N-Nitrosodimethylamine	62-75-9	4.909	74.00>44.10	74.00>42.10
2	NDEA	N-Nitrosodiethylamine	55-18-5	5.654	102.00>85.10	102.00>44.10
3	NEIPA	N-Nitrosoethylisopropylamine	16339-04-1	5.977	116.00>99.10	116.00>44.10
4	NDIPA	N-Nitrosodiisopropylamine	601-77-4	6.227	130.00>88.10	130.00>42.10
5	NDPA	N-Nitrosodipropylamine	621-64-7	6.894	130.00>113.20	130.00>43.10
6	NDBA	N-Nitrosodibutylamine	924-16-3	8.296	158.00>141.20	158.00>99.10

2.2 校准曲线和检出限

分别配制 1、2、4、10、20、40、100、200 ng/mL 的混合标准溶液，进样 1 μ L，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做校准曲线，校准曲线如图 3 所示。根据曲线最低浓度点数据，以 3 倍信噪比计算仪器检出限，10 倍信噪比计算仪器定量限，6 种物质的线性相关系数、检出限如表 2 所示。

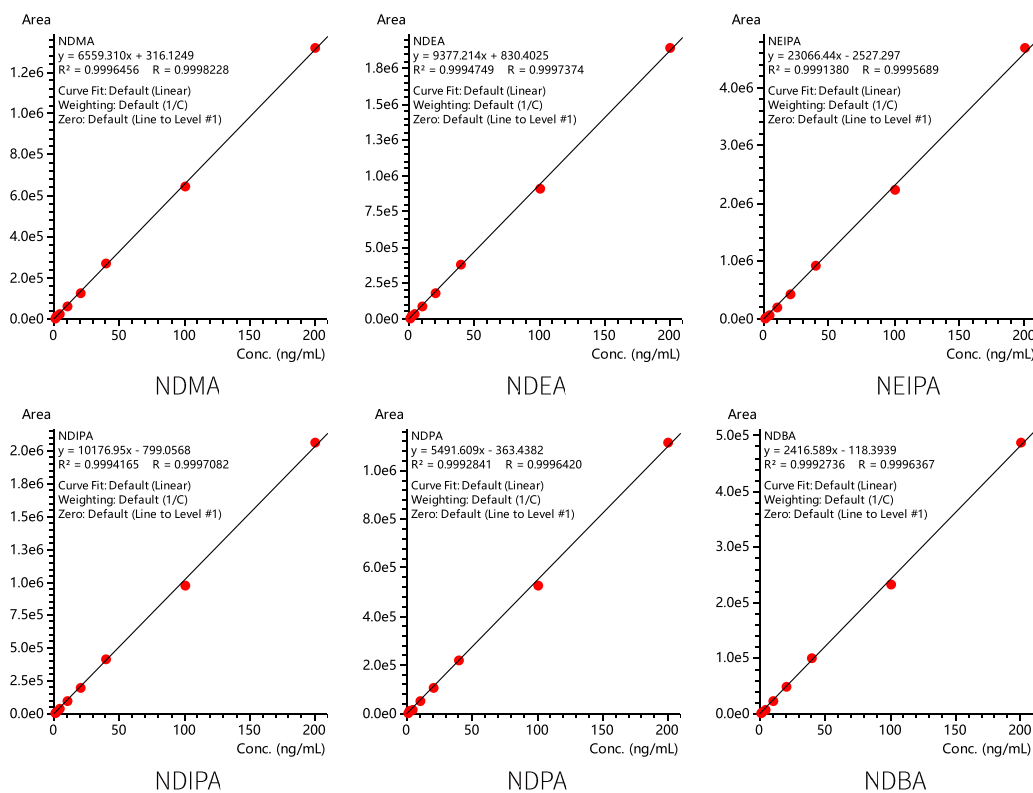


图 2 6 种亚硝胺校准曲线

表 2 校准曲线相关系数、定量限与检出限

No.	化合物名称	相关系数 (R)	定量限 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)
1	NDMA	0.9998	0.47	0.14
2	NDEA	0.9997	0.21	0.06
3	NEIPA	0.9996	0.07	0.02
4	NDIPA	0.9997	0.34	0.10
5	NDPA	0.9996	0.10	0.03
6	NDBA	0.9997	0.70	0.21

2.3 重复性实验

取浓度为 1 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 重复性结果

No.	化合物名称	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD (%)
1	NDMA	6029	5888	6502	6333	6564	6525	4.51
2	NDEA	11163	11399	10385	11203	10554	11708	4.57
3	NEIPA	20309	20674	21366	21718	22235	22470	3.97
4	NDIPA	9424	9542	9594	9587	10089	10267	3.50
5	NDPA	4875	4683	4837	4934	5117	5248	4.11
6	NDBA	2192	2173	2249	2251	2224	2432	4.12

2.4 加标回收率

对乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、乙酸异丙酯四种回收溶剂进行检测，四种溶剂均未检出这6种亚硝胺类物质。对这4种回收溶剂进行两个浓度水平的加标实验，回收率结果如表4与表5所示。

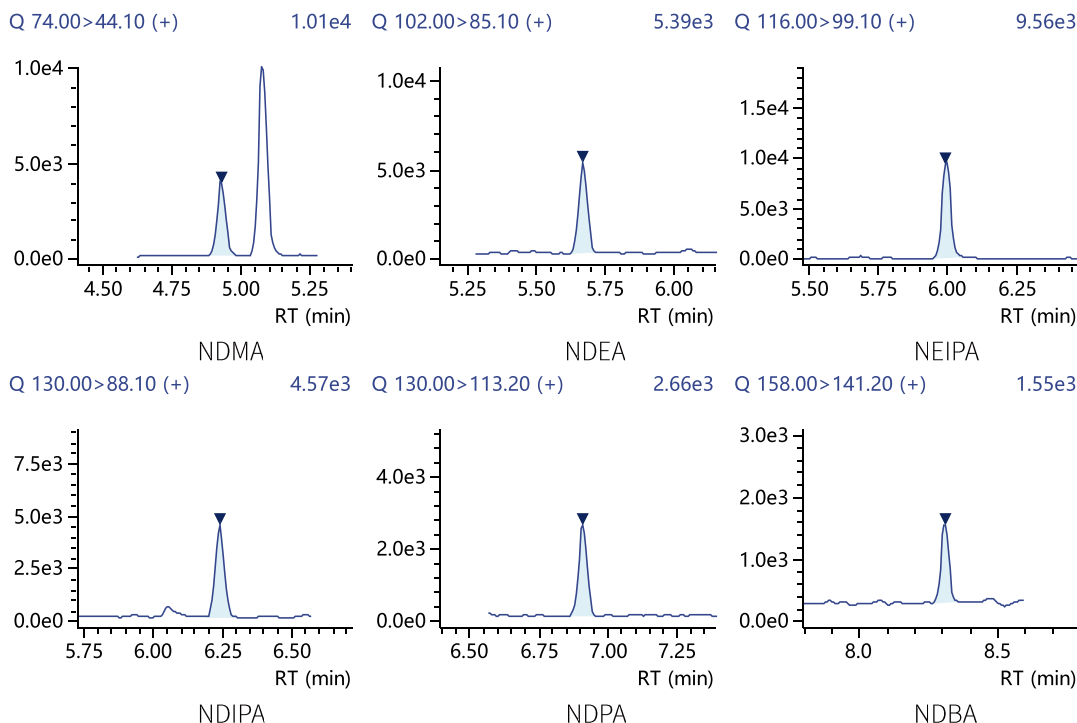


图3 乙酸乙酯回收溶剂加标质量色谱图（加标 10 ng/g）

表4 回收溶剂加标实验结果（加标 10 ng/g）

No.	化合物名称	平均回收率 %			
		乙酸乙酯	正己烷	二氯甲烷	乙酸异丙酯
1	NDMA	107.36	98.61	104.20	103.10
2	NDEA	103.25	106.71	106.80	97.43
3	NEIPA	104.48	107.76	108.49	101.03
4	NDIPA	107.44	108.62	106.82	99.17
5	NDPA	99.65	106.68	107.89	101.29
6	NDBA	103.44	108.30	105.71	108.87

表5 回收溶剂加标实验结果（加标 20 ng/g）

No.	化合物名称	平均回收率 %			
		乙酸乙酯	正己烷	二氯甲烷	乙酸异丙酯
1	NDMA	101.28	101.76	99.73	101.18
2	NDEA	101.24	104.15	102.04	103.96
3	NEIPA	101.68	103.58	101.98	98.60
4	NDIPA	103.46	105.56	100.87	99.51
5	NDPA	103.88	105.41	104.36	99.51
6	NDBA	104.44	105.83	103.37	101.75

■ 结论

本文利用岛津三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8040 NX，建立了回收溶剂中 6 种亚硝胺类遗传毒性杂质的检测方法。6 种亚硝胺在 1~200 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数均在 0.999 以上。取浓度为 1 ng/mL 的标准溶液连续进样 6 针，6 种亚硝胺峰面积重复性均在 5% 以下。加标实验中，以 10 ng/g 与 20 ng/g 为加标浓度，四种回收溶剂 6 种亚硝胺平均回收率在 97.43%~108.87% 之间。该方法灵敏度高、重复性好，可以为监控药物生产中使用的回收溶剂中的亚硝胺类遗传毒性杂质提供可靠的检测方法。

岛津应用云

