

# LC-MS/MS 测定喹那普利中 N-亚硝基喹那普利的含量

## LCMSMS-905

**摘要：** 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪测定喹那普利中 N-亚硝基喹那普利的含量。在 0.25~100 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数大于 0.999，检出限为 0.015 ng/mL，定量限为 0.045 ng/mL。三个不同浓度 N-亚硝基喹那普利对照溶液分别连续进样 6 针，保留时间 RSD 在 0.058%~0.091% 范围内，峰面积 RSD% 在 0.83%~3.74% 范围内。三个浓度水平的加标回收率为 86.28~92.73%。该方法灵敏度高，重复性好，能够有效的测定喹那普利中 N-亚硝基喹那普利的含量。

**关键词：** 喹那普利 N-亚硝基喹那普利 液质联用法

### 技术特点：

- ❖ 此方法检测 N-亚硝基喹那普利，灵敏度高，可至限量的百分之一以下。
- ❖ 采用 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法进行色谱峰积分，便捷准确。
- ❖ 使用 Shim-pack C18-AQ 可以将 N-亚硝基喹那普利的空间异构体分离。

喹那普利是血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂，用于治疗高血压病。2022 年 3 月 21 日，辉瑞主动召回了 3 款常用的降压药，其中包括盐酸喹那普利片剂以及两种授权仿制药，原因为药物中含有 N-亚硝基喹那普利的高于人体每日可接受摄入量水平。

N-亚硝基喹那普利是属于亚硝胺类杂质，具有致癌潜力，根据 EMA 发布的法规说明，对尚无充分毒性数据的亚硝胺类化合物，可暂定每日最大摄入量不得过 18 ng。依据喹那普利最大服用剂量 40 mg 计算，N-亚硝基喹那普利可接受限度为 0.45 ppm。

本实验使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了测定喹那普利中 N-亚硝基喹那普利含量的方法。可为相关从业人员提供参考。

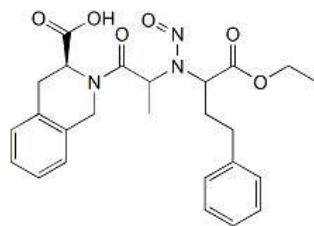


图 1 N-亚硝基喹那普利

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 LCMS-8050 液质联用系统，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵：	LC-30AD×2	柱温箱：	CTO-30A
自动进样器：	SIL-30AC	质谱仪：	LCMS-8050
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.118	切换阀：	FCV-32AH

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

- 色谱柱：Shim-pack GIST C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-30807-02)
- 捕集柱：Shim-pack Scepter C18-120 [metal free] (50mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-31072-01)

流动相：A-0.1% 甲酸水；B-0.1% 甲酸乙腈；  
 进样体积：5  $\mu$ L 柱温：40 $^{\circ}$ C  
 流速：0.3 mL/min 洗针液：甲醇 / 水 =1:1 (v:v)  
 洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，FCV 初始状态为 1，时间程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	55
5.30	CTO	CTO.RVL	0
6.50	Pumps	Pump B Conc.	60
7.00	Pumps	Pump B Conc.	95
7.50	CTO	CTO.RVL	1
9.00	Pumps	Pump B Conc.	95
9.10	Pumps	Pump B Conc.	10
12.00	Controller	Stop	

其中：FCV 的 0 代表接入质谱端；FCV 的 1 代表废液端

#### 质谱条件

离子化模式：ESI (+) 雾化气流速：3.0 L/min  
 接口电压：4.0 kV 干燥气流速：10.0 L/min  
 接口温度：300 $^{\circ}$ C 加热气流速：10.0 L/min  
 加热块温度：400 $^{\circ}$ C D L 温度：250 $^{\circ}$ C

表 2 MRM 参数

No.	中文名	CAS. No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	N- 亚硝胺喹那普利	-	468.20	234.20*	-17	-21	-11
				178.10	-23	-13	-30
2	喹那普利	85441-61-8	439.20	234.20*	-16	-21	-24
				130.10	-16	-30	-13

\* 代表定量离子对。

#### 1.3 标准品溶液配制

称取 N- 亚硝基喹那普利标准品适量配制成 100  $\mu$ g/mL 标准储备液。取适量标准储备液，使用甲醇配制成浓度为 0.25 ng/mL、0.50 ng/mL、1.00 ng/mL、2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、20.00 ng/mL、100 ng/mL 的标准系列溶液。

#### 1.4 样品前处理

精密称取适量喹那普利样品 50 mg，置入离心管中，加入 5 mL 甲醇，涡旋使溶解，过滤，作为供试品溶液。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 N- 亚硝基喹那普利标准溶液谱图

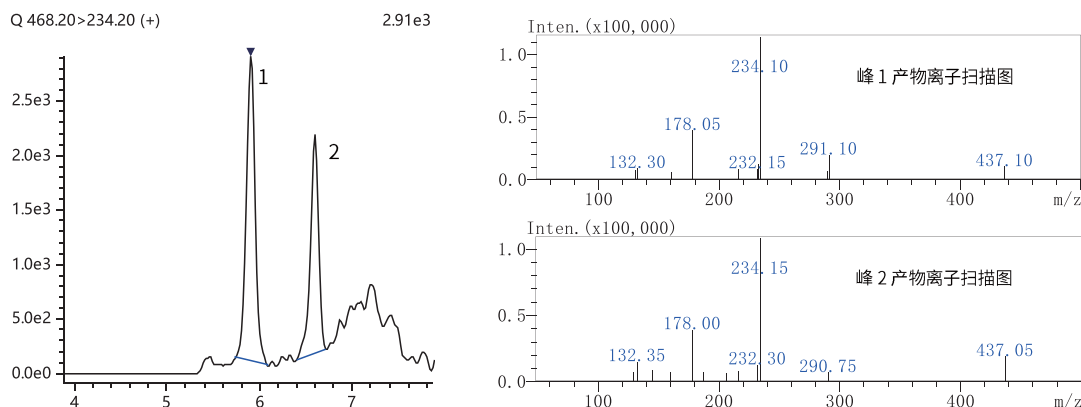


图 2 N- 亚硝基喹那普利标准溶液 MRM 色谱图 (0.25 ng/mL) 及产物离子扫描图 (100 ng/mL)

对峰 1、峰 2 进行产物离子扫描, 发现二者的碎片离子基本一致, 根据 N- 亚硝基喹那普利空间构型, 因此, 推断峰 1 和峰 2 为空间异构体, 均为 N- 亚硝基喹那普利。

### 2.2 校准曲线和检出限

按照 1.3 及 1.4 项下分析条件, 标准系列溶液为 0.25 ng/mL、0.50 ng/mL、1.00 ng/mL、2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、20.00 ng/mL、100 ng/mL, 按照浓度从低到高的顺序依次上机测定, 以系列标准工作液中 N- 亚硝基喹那普利的浓度为横坐标, 以 N- 亚硝基喹那普利两个异构体峰面积之和为纵坐标, 绘制校准曲线, 如图 3 所示。N- 亚硝基喹那普利在校准曲线浓度范围内线性关系良好, 相关系数  $r$  大于 0.999, 各校准点准确度在 91.70%-107.70% 之间。根据 N- 亚硝基喹那普利最低浓度点标样数据, 以 3 倍信噪比计算检出限, 检出限及线性相关系数如表 3 所示。

表 3 N- 亚硝基喹那普利的校准曲线及检出限

化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
N- 亚硝基喹那普利	$Y = (107608)X + 2351.45$	0.9999	91.70%-107.70%	0.015	0.045

### 2.3 重复性实验

取校准曲线低中高, 三个不同浓度点对照溶液, 连续进样 6 次, 考察仪器的精密度, 保留时间 RSD 在 0.058%~0.091% 范围内, 峰面积 RSD% 在 0.83%~3.74% 范围内。具体结果见表 4, 仪器精密度良好。

表 4 精密度结果 (n=6)

化合物名称	0.25 $\mu$ g/mL		5 $\mu$ g/mL		20 $\mu$ g/mL	
	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
N- 亚硝基喹那普利 1	0.091	3.74	0.080	1.78	0.061	0.83
N- 亚硝基喹那普利 2	0.090	3.05	0.076	1.38	0.058	0.92

## 2.4 实际样品测定及准确度测定

按照以上建立的方法对喹那普利原料药进行测定，该样品中 N- 亚硝基喹那普利的含量为 3.612 mg/kg。其色谱图如图 3 所示。

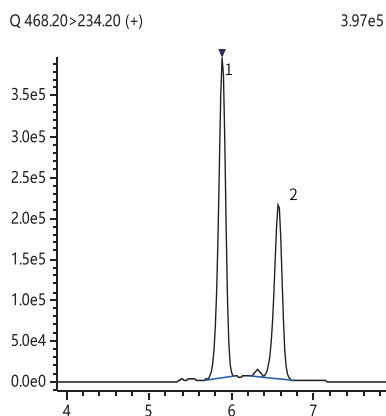


图 3 样品中 N- 亚硝基喹那普利 MRM 色谱图

根据喹那普利原料药中 N- 亚硝基喹那普利的含量，分别向喹那普利加入含量为 2.5 mg/kg、4 mg/kg、4.5 mg/mL 的标准品，按照 1.4 进行前处理，测定不同水平样品的加标回收率在 86.28~92.73% 范围内，RSD 结果如表 5 所示。

表 5 不同浓度水平 N- 亚硝基喹那普利添加回收率结果 (n=3)

样品含量 mg/kg	加标后含量 mg/kg	加标量 mg/kg	回收率 %	RSD%
3.612	5.836	2.5	86.38	1.30
	7.380	4.0	92.57	1.65
	7.850	4.5	92.73	1.37

## 2.5 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法积分

本实验色谱图积分处理使用的是 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法，在进行数据过程中，仅需要在质谱处理软件 Labsolutions Insight 打开 LC-MS/MS 采集的数据，在积分功能选择“Peakintelligence\_Ver2”及模型“LCMS\_Model\_V1”，无需设置任何积分参数，即可自动、快速、准确完成目标物色谱峰的积分。

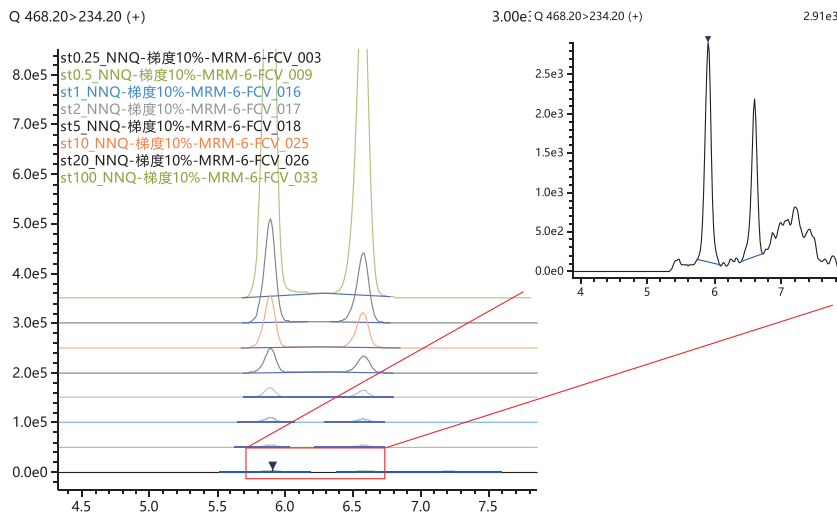


图 4 不同浓度的 N- 亚硝基喹那普利 MRM 叠加色谱图

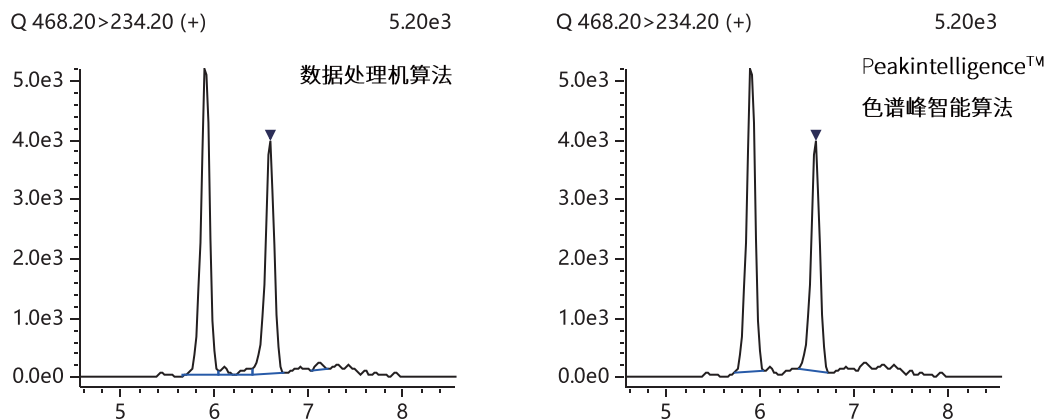


图 5 不同积分算法的色谱图对比

本实验中由于色谱峰附近杂峰较多，对于 N-亚硝基喹那普利的校准曲线范围是从 0.25 ng/mL 到 100 ng/mL，线性范围比较宽，标样浓度从小到大均可以快速精准进行积分，校准曲线的相关系数大于 0.999，色谱图如图 4 所示。同一浓度的色谱图使用 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法进行积分时，积分的起落点更为合理。使用不同积分算法的色谱图对比见图 5。

## ■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了测定喹那普利中 N-亚硝基喹那普利的的方法。结果显示：对 N-亚硝基喹那普利对照品溶液进行重复性测试，三个不同浓度 N-亚硝基喹那普利的保留时间及峰面积的 RSD 均小于 0.091% 和 3.74%；以组校准方式进行外标法定量，其结果显示校准曲线相关系数大于 0.999。使用喹那普利原料药作为加标基质，考察三个不同浓度水平加标回收以及 RSD，结果显示，三个不同水平的加标回收率在 86.28~92.73% 之间，实验结果表明，该方法前处理简单，专属性强，能够满足 N-亚硝基喹那普利的含量测定需要，可为相关从业人员提供参考。

岛津应用云

