

# GC-MS/MS 法测定药品中 4 种苯胺类遗传毒性杂质含量

GCMSMS-231

**摘要：** 本文利用岛津公司 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪，建立了药品托拉塞米中邻硝基甲苯、邻甲苯胺、间甲苯胺、对甲苯胺 4 种遗传毒性杂质的检测方法。该方法使用二氯甲烷为提取液采用液液萃取法进行前处理，在 2~100 ng/mL 浓度范围内各组分线性关系良好，相关系数均达到 0.999 以上，方法检出限在 0.03~0.39 ng/mL。2 ng/mL 标准混合溶液连续进样 7 针，峰面积 RSD 均小于 4.31%。0.1 µg/g 与 0.25 µg/g 加标浓度的加标回收率为 96.0~105.0%。该方法简便快捷、灵敏度高，能够有效检测化药中这 4 种苯胺类遗传毒性杂质的含量。

**关键词：** 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 药品 遗传毒性杂质

托拉塞米是一种利尿剂，主要用于治疗水肿性疾病，如心力衰竭、肝硬化和肾脏疾病，也可以治疗高血压。托拉塞米在合成过程中必须使用间甲苯胺，间甲苯胺中可能引入邻甲苯胺、对甲苯胺和邻硝基甲苯，这四种物质均含有遗传毒性杂质致癌性杂质的警示结构，为遗传毒性杂质。

遗传毒性杂质是一类在很低的浓度下即可诱导基因突变并导致染色体的断裂和重排从而具有潜在致癌性的物质。该类物质近年来引起国际社会的高度关注，ICH 针对遗传毒性杂质制订了指导原则 M7 遗传毒性杂

质指南。该指南提供了多种遗传毒性杂质类物质的毒理学数据，并根据这些数据给出了这些物质的阈值。

遗传毒性物质通常限度很低，目前已有采用 GCMS 法检测药品中苯胺类物质的报道，为进一步提高检测的灵敏度，本文使用二氯甲烷为提取液采用液液萃取法进行前处理，采用 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪检测，建立了托拉塞米中邻硝基甲苯、邻甲苯胺、间甲苯胺、对甲苯胺四种遗传毒性杂质的检测方法。该方法简便快捷、灵敏度高，可用于托拉塞米中这四种遗传毒性杂质含量的检测。

## ■ 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 :SH-Rtx-wax (30 m×0.25 mm×0.25 µm)

柱温程序：60°C (0.5 min)\_15°C /min\_150°C \_  
20°C /min\_240°C (5 min)

进样口温度：250°C

流速控制方式：恒线速度方式

线速度：44.7 cm/s

进样方式：不分流进样

高压进样：250 kPa (1 min)

离子化方式：EI

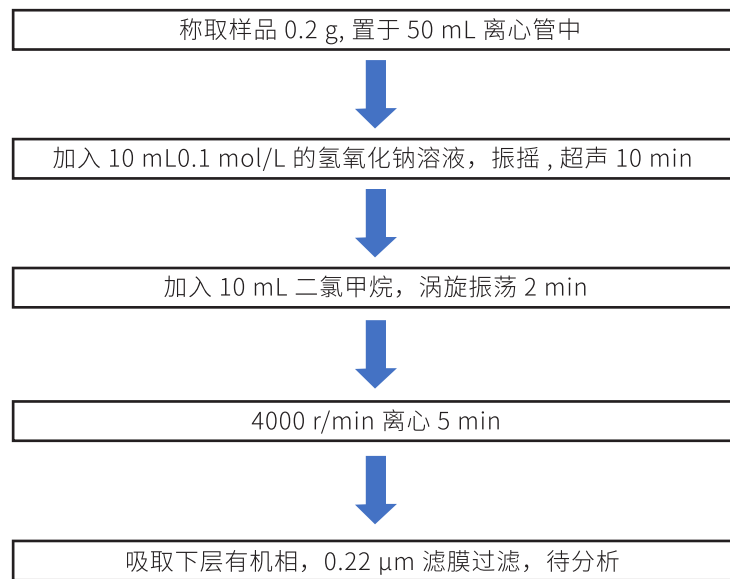
离子源温度：230°C

色谱质谱接口温度：240°C

检测器电压：调谐电压 +0.6 kV

采集模式：MRM，离子信息见表 1

■ 样品前处理



■ 结果与讨论

3.1 四种遗传毒性杂质质量色谱图

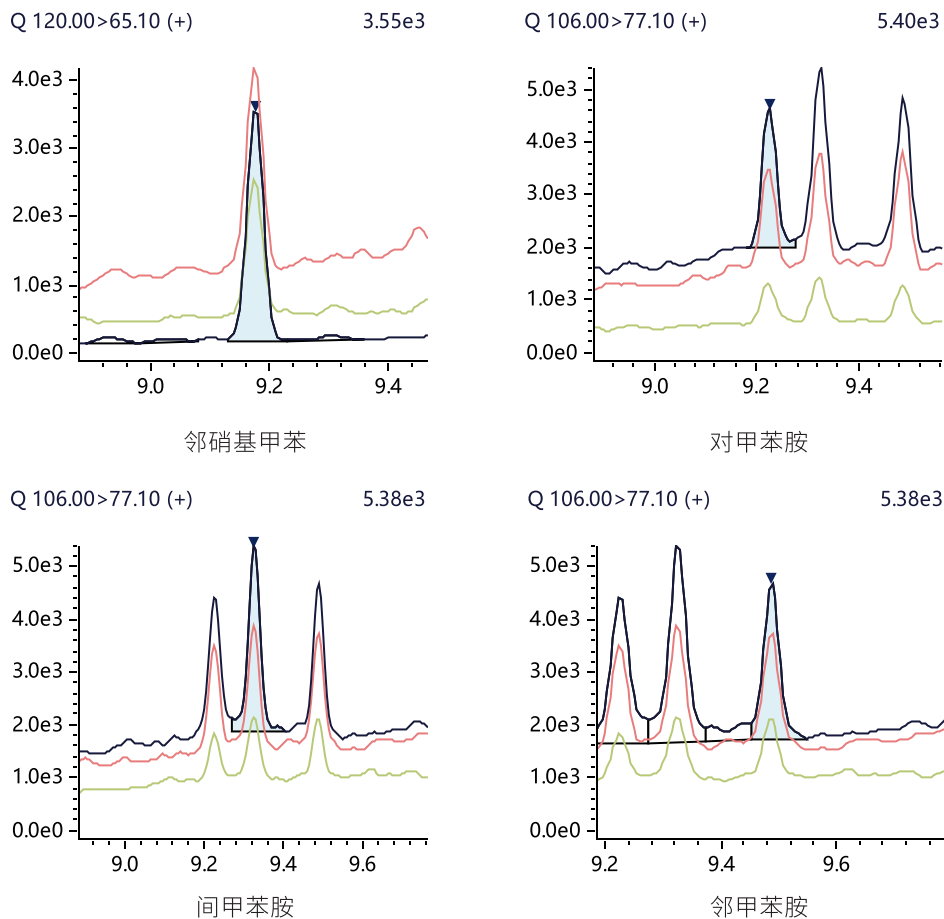


图 1 四种遗传毒性杂质标准溶液质量色谱图 (2 ng/mL)

表 1 四种遗传毒性杂质组分信息

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子	定性离子
1	邻硝基甲苯	o-Nitrotoluene	88-72-2	9.174	120.00>65.10	20.00>92.10 92.00>65.10
2	对甲苯胺	p-Toluidine	106-49-0	9.223	106.00>77.10	106.00>79.10 106.00>51.10
3	间甲苯胺	m-Toluidine	108-44-1	9.324	106.00>77.10	106.00>79.10 107.00>77.10
4	邻甲苯胺	o-Toluidine	95-53-4	9.486	106.00>77.10	106.00>79.10 107.00>77.10

### 3.2 标准曲线和检出限

分别配制 2、5、10、20、50、100 ng/mL 的混合标准溶液，进样 1  $\mu$ L，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 2 所示。根据 2 ng/mL 标样数据，以 3 倍信噪比计算四种遗传毒性杂质的仪器检出限，各化合物检出限及线性相关系数如表 2 所示。

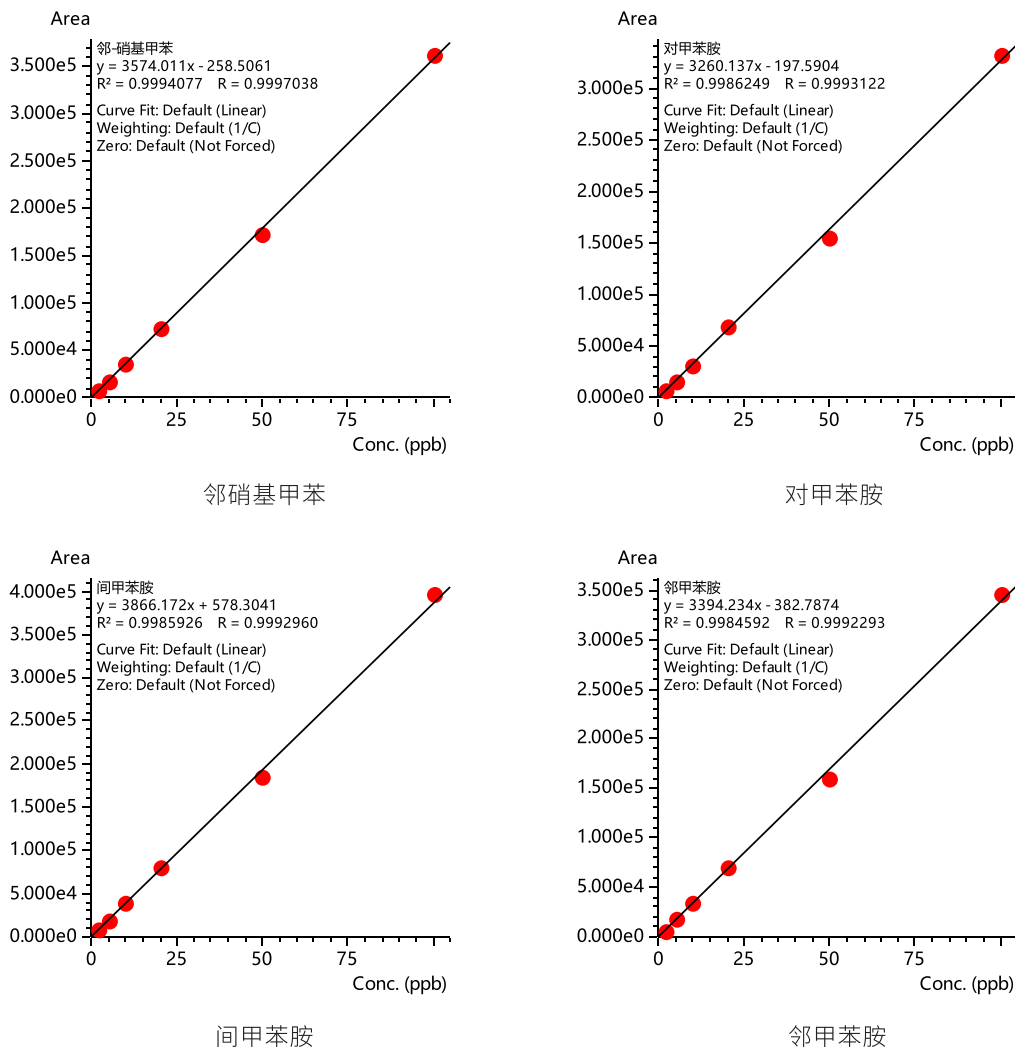


图 2 四种遗传毒性杂质标准曲线

表 2 各组分相关系数及仪器检出限、仪器定量限

No.	组分名称	相关系数 (R)	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	邻硝基甲苯	0.9997	0.03	0.09
2	对甲苯胺	0.9993	0.39	1.31
3	间甲苯胺	0.9993	0.30	1.00
4	邻甲苯胺	0.9993	0.27	0.89

### 3.3 重复性实验

取 2 ng/mL 标准品溶液, 连续进样 7 次, 考察仪器的重复性, 测定结果见表 3。

表 3 各组分重复性结果

No.	化合物名称	面积 1	面积 2	面积 3	面积 4	面积 5	面积 6	面积 7	RSD (%)
1	邻硝基甲苯	6746	6722	6984	6592	7125	7168	7209	3.56
2	对甲苯胺	5282	5122	5205	5220	4883	4876	5066	3.18
3	间甲苯胺	6752	6477	6747	6563	6755	6849	6460	2.32
4	邻甲苯胺	5992	5556	5795	5326	5708	5996	5560	4.31

### 3.4 加标回收率

检测市售的托拉塞米片, 药品中检出了邻甲苯胺。对此药品进行两个浓度水平的加标实验, 回收率结果如表 4 所示。

表 4 药品加标实验结果

No.	化合物名称	样品含量 (μg/g)	加标 (0.1 μg/g)		加标 (0.25 μg/g)	
			测试值 (μg/g)	回收率 (%)	测试值 (μg/g)	回收率 (%)
1	邻硝基甲苯	N.D.	0.105	105.0	0.253	101.2
2	对甲苯胺	N.D.	0.096	96.0	0.246	98.4
3	间甲苯胺	N.D.	0.103	103.0	0.258	103.2
4	邻甲苯胺	0.031	0.129	98.0	0.280	99.6

注: N.D. 表示未检出。

## ■ 结论

本文利用岛津公司的 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪, 建立了药品托拉塞米中邻硝基甲苯、邻甲苯胺、间甲苯胺、对甲苯胺四种遗传毒性杂质的检测方法。该方法使用二氯甲烷为提取液采用液液萃取法进行前处理, 在 2~100 ng/mL 浓度范围内各组分线性关系良好, 相关系数均达到 0.999 以上, 方法检出限在 0.03~0.39 ng/mL。2 ng/mL 标准混合溶液连续进样 7 针, 峰面积 RSD 均小于 4.31%。0.1 μg/g 与 0.25 μg/g 加标浓度的加标回收率为 96.0~105.0%。该方法简便快捷、灵敏度高, 能够有效检测托拉塞米中这四种遗传毒性杂质的含量。

岛津应用云

