

GC-MS/MS 法测定美罗培南中 4 种 N- 亚硝胺含量

GCMSMS-220

摘要：本文利用 GCMS-TQ8050 NX 建立了美罗培南中 NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA 含量的分析方法。该方法利用 1N 盐酸溶液溶解供试品，二氯甲烷液液萃取，前处理流程简便。实验结果表明：该方法线性良好，线性相关系数均大于 0.999。对高、中、低水平的标准溶液重复进样 6 针，保留时间 RSD 均小于 0.05%，峰面积 RSD% 均小于 7%，重复性良好。加标回收实验中，回收率为 78.31 ~ 103.83%，相对标准偏差 RSD% 为 1.91~13.98%，回收及精密度良好。该方法为美罗培南中 4 种 N- 亚硝胺的检测提供参考。

关键词：气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 美罗培南 N- 亚硝胺

基因毒性杂质是指化合物本身直接或间接损伤细胞 DNA，产生致突变和致癌的物质。基因毒性物质的特点是在很低的浓度时即可造成人体遗传物质的损伤，进而导致基因突变并可能促使肿瘤发生。因其毒性较强，对用药的安全性产生了强烈的威胁。近年来，已上市药品中发现痕量的基因毒性杂质残留而发生大范围的医疗事故，继而被召回的案例时有发生，给药厂造成了巨大的经济损失。NDMA、NDEA、NEIPA、

NDIPA 都属于 N- 亚硝胺类基因杂质。

美罗培南，或译美洛培南，是一种有非常广泛抗菌性及可供注射的抗生素，用于治疗多种不同的感染，包括脑膜炎及肺炎。它是一种 β 内酰胺类抗生素。

本法采用 1N 盐酸溶液溶解，二氯甲烷液液萃取，利用 GCMS-TQ8050 NX 建立了美罗培南中四种 N- 亚硝胺的检测方法，供检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

三重四极杆气质联用仪：GCMS-TQ8050 NX

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Stabilwax 30 m×0.25 mm×0.25 μ m

进样口温度：240 $^{\circ}$ C

程序升温：40 $^{\circ}$ C (0.5 min)_20 $^{\circ}$ C /min_180 $^{\circ}$ C _

30 $^{\circ}$ C /min_250 $^{\circ}$ C (2min)

接口温度：240 $^{\circ}$ C

分流模式：不分流

载气控制方式：恒线速度 (36.1 cm/sec)

离子源温度：200 $^{\circ}$ C

采集模式：MRM (具体采集参数见表 1)

1.3 样品前处理方法

精密称取供试品约 0.25 g(以原料药计)至 10 mL 离心管中，加入 2.5 mL1N 盐酸，涡旋 1 min 后，再加入 2.5 mL 二氯甲烷，涡旋提取 1 min，4000 r/min 离心 5 min，取下层清液过 0.45 μ m 微孔滤膜，上机分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准品色谱图

分析 4 种 N- 亚硝胺标准混合溶液，浓度为 0.4 ng/mL，得到 MRM 图如图 1 所示，具体化合物信息如表 1 所示。

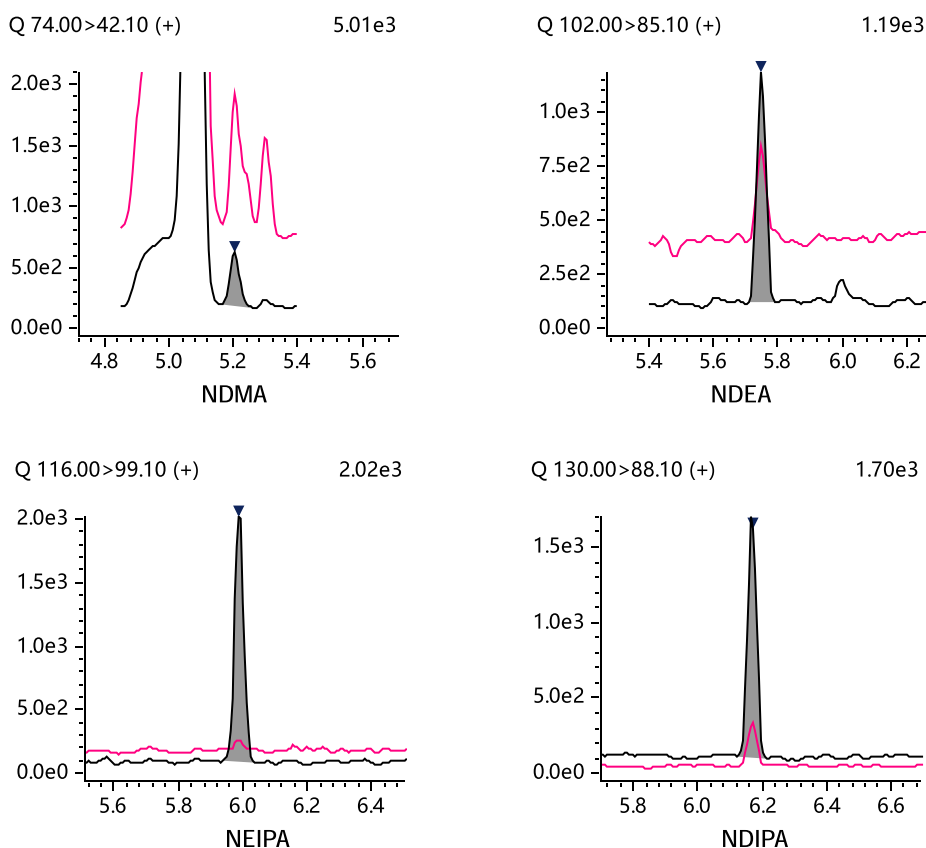


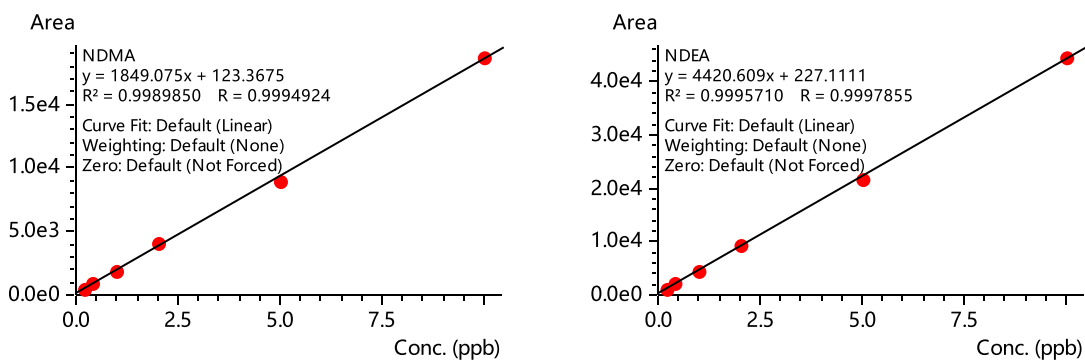
图 1 标准溶液 MRM 图 (0.4 ng/mL)

表 1 化合物信息表

No.	化合物名	简称	CAS 号	保留时间 (min)	离子对	碰撞电压 (V)
1	N-亚硝基二甲基胺	NDMA	62-75-9	5.203	74.00>44.00	6
					74.00>42.10	21
2	N-亚硝基二乙基胺	NDEA	55-18-5	5.750	102.00>85.10	6
					102.00>56.10	15
3	N-亚硝基二异丙基胺	NDIPA	601-77-4	5.990	116.00>99.10	6
					116.00>70.20	11
4	N-亚硝基乙基异丙基胺	NEIPA	16339-04-1	6.171	130.00>88.10	6
					130.00>113.20	3

2.2 校准曲线及检出限

以二氯甲烷为溶剂配制标准溶液，浓度为 0.2、0.4、1、2、5 和 10 ng/mL，以各目标物浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以外标法绘制标准曲线，所得校准曲线线性关系良好，线性相关系数大于 0.999，校准曲线如图 2 所示。根据 0.2 ng/mL 标准溶液信噪比计算仪器检出限和定量限，具体结果如表 2 所示。



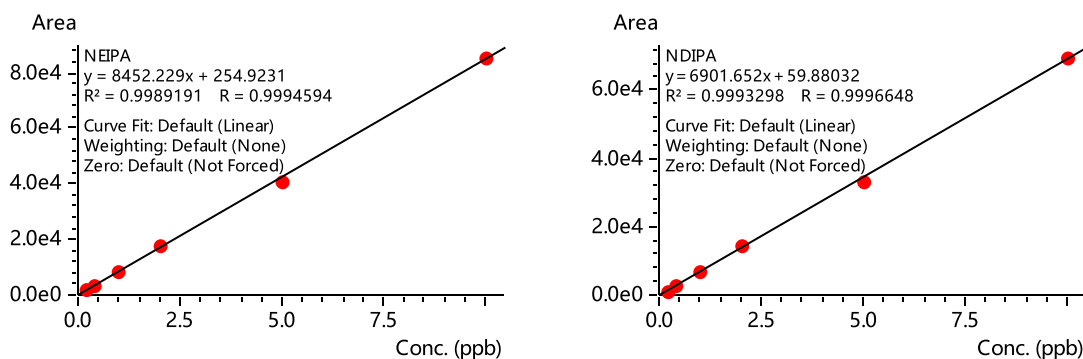


图2 四种 N- 亚硝胺组分校准曲线

表2 校准曲线相关系数及仪器检测限、定量限

序号	名称	相关系数 r	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	NDMA	0.9994	0.00492	0.01639
2	NDEA	0.9997	0.02624	0.08745
3	NEIPA	0.9994	0.02538	0.08460
4	NDIPA	0.9996	0.03478	0.11594

2.3 重复性考察

将低、中、高三个浓度标准溶液连续进样6次，考察保留时间和峰面积重复性。结果表明：保留时间RSD%均小于0.05%和峰面积RSD%均小于7%，方法重复性良好，仪器精密度良好。结果见表3。

表3 重复性测试 (n=6)

名称	RSD% (0.2ng/mL)		RSD% (1.6ng/mL)		RSD% (2.4ng/mL)	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
NDMA	0.030	4.87	0.011	0.83	0.020	4.36
NDEA	0.020	6.78	0.014	1.51	0.017	4.80
NEIPA	0.015	4.99	0.017	2.69	0.024	3.33
NDIPA	0.019	6.89	0.008	2.12	0.010	3.31

2.4 加标回收实验

按照1.3步骤中制备样品和加标样品，三个水平加标浓度如下表4所示。测试结果显示：各水平的加标回收率在78.31~103.83%之间，相对标准偏差RSD%在1.91~13.98%之间。

表4 原料药加标实验结果 (n=3)

名称	样品浓度 (ng/mL)	加标 (0.2ng/mL)		加标 (1.6ng/mL)		加标 (2.4ng/mL)	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
NDMA	N.D.	93.15	10.98	78.31	2.00	82.68	3.11
NDEA	N.D.	79.51	13.98	83.78	8.61	86.42	4.18
NEIPA	N.D.	103.83	9.90	93.05	5.62	96.41	1.91
NDIPA	N.D.	96.48	2.92	92.77	7.75	97.87	6.66

注：N.D. 表示未检出。

■ 结论

本文利用岛津 GCMS-TQ 8050 NX 气相色谱串联质谱仪，建立一种简便、快速、准确的美罗培南中 4 种 N-亚硝胺的分析方法。该方法采用外标法定量，在 0.2-10 ng/mL 的范围内，各组分线性相关系数均在 0.999 以上，线性良好。对高、中、低水平的标准溶液重复进样 6 针，保留时间和峰面积均表现出了良好的重复性。加标回收实验中，各物质回收率在 78.31~ 103.53% 之间，回收及精密度良好。该方法操作简捷，为美罗培南中 NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA 的检测提供很好的参考。

岛津应用云

