

LC-MS/MS 测定吗啉硝唑氯化钠注射液中 基因毒性杂质 N- 亚硝基吗啉残留量

LCMSMS-978

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了吗啉硝唑氯化钠注射液中的基因毒性杂质 N- 亚硝基吗啉测定的方法。实验结果表明，在 0.2-50 ng/mL 浓度范围内，线性良好，相关系数 R 为 0.9997，曲线各浓度点准确度在 96.2%-103.6% 之间。0.5 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别是 0.06% 和 2.38%。0.1、1 和 4 $\mu\text{g/g}$ 三个不同浓度加标回收率在 95.3%-98.8% 之间，平行三份样品的相对标准偏差 (RSD%) 在 2.3%-3.1% 之间。该方法简单，稳定，准确，可供相关从业人员参考。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 吗啉硝唑氯化钠注射液 N- 亚硝基吗啉

技术特点：

- ❖ 本方法定量限小于 0.05 $\mu\text{g/g}$ ，灵敏度高，可用于微量检测。
- ❖ 样品过膜后直接进样，无需额外前处理，操作简单。

吗啉硝唑氯化钠注射液在临床中主要用于治疗因韦荣球菌、消化链球菌等各种细菌而导致的输卵管炎、盆腔腹膜炎、子宫内膜炎等妇科盆腔炎症。同时还能够对厌氧球菌、梭菌属以及拟杆菌属的病菌所导致的坏疽性阑尾炎、化脓性阑尾炎起到治疗的作用。目前，据报道，某些药企的吗啉硝唑氯化钠注射液中检出 N- 亚硝基吗啉。N- 亚硝基吗啉是一种亚硝胺类物质，属于基因毒性物质，具有致癌可能或者倾向。2017 年 10 月 27 日，世界卫生组织国际癌症研究机

构公布的致癌物清单初步整理参考，N- 亚硝基吗啉在 2B 类致癌物清单中。因此，加强对吗啉硝唑氯化钠注射液中 N- 亚硝基吗啉检测和监管至关重要。

目前国内外关于 N- 亚硝基吗啉的检测方法主要包括 GC-MS/MS 法、GCMS 法以及 LC-MS/MS 法。本文采用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了一种吗啉硝唑氯化钠注射液中的 N- 亚硝基吗啉测定的方法，该方法简单，稳定，灵敏度高，回收率高，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

系统控制器：CBM-40lite
输液泵：LC-40B XR
柱温箱：CTO-40S
质谱检测器：LCMS-8050

脱气机：DGU-405
自动进样器：SIL-40C XR
色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.118

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：ACE-C18-AR (4.6 mm I.D. × 150 mm L., 3 μm)
流动相：A 相 -0.1% 甲酸水；B 相 -0.1% 甲酸甲醇
流速：0.4 mL/min 进样体积：10 μL
柱温：40°C 进样器温度：15°C
洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 60%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.20	Column Oven	CTO.RVR	0
5.00	Pumps	Pump B Conc.	95
7.00	Pumps	Pump B Conc.	95
7.00	Column Oven	CTO.RVR	1
7.10	Pumps	Pump B Conc.	60
12.00	Controller	Stop	

注：* CTO.RVR 为色谱柱后流路切换阀指令，Value 值为“0”时流路与质谱相连，Value 值为“1”时流路与废液管相连。

质谱条件：

离子源：APCI (+)	加热模块温度：200℃
接口电压：4.5 kV	接口温度：350℃
雾化气流速：3.0 L/min	碰撞气：氦气
干燥气流速：5.0 L/min	扫描模式：多反应监测 (MRM)
D L 温度：250℃	MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

No.	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais (V)	CE(V)	Q3 Pre Bais (V)
			87.1*	-25.0	-14.0	-15.0
1	N-亚硝基吗啉	117.0	86.1	-14.0	-15.0	-15.0
			45.0	-14.0	-21.0	-17.0

注：* 表示定量离子

1.3 标准品及样品制备

储备液：精密称取 N-亚硝基吗啉对照品 10 mg，用甲醇定容至 100 mL 容量瓶中，制得 N-亚硝基二甲胺储备液。

校准工作曲线：准确移取储备液适量，用 0.9% 氯化钠溶液稀释，配制成 0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL 的标准系列工作液。

供试品溶液：吗啉硝唑氯化钠注射液（规格：100 mL，吗啉硝唑 0.5 g，氯化钠 0.9 g），0.22 μm 滤膜过滤后待测。

结果讨论

2.1 色谱图

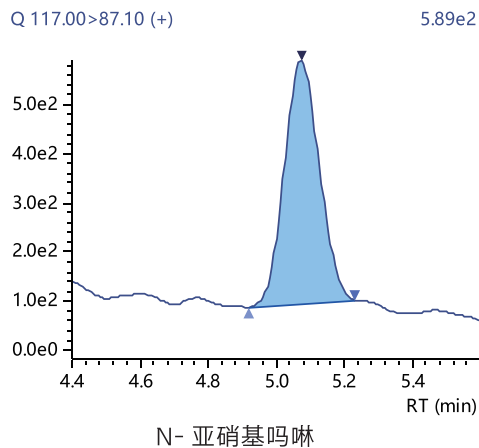


图 1 标准品溶液 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

2.2 校准曲线、重复性结果

按照 1.3 制备标准系列工作溶液，使用外标法拟合工作曲线，校准曲线见图 2。0.5 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性。线性范围、各浓度点线性回归的准确度、相关系数、重复性等结果见表 3。曲线各标点准确度在 96.2%-103.6%，线性相关系数 R 为 0.9997。保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别是 0.06% 和 2.38%，方法精密度良好。

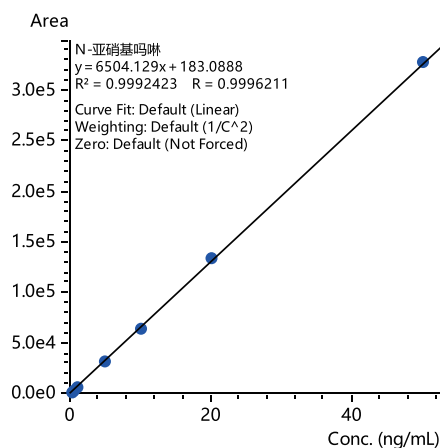


图 2 校准曲线

表 3 校准曲线、重复性结果

No.	化合物名称	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 R	RSD% (0.5 ng/mL)	
					R.T.	Area
1	N-亚硝基吗啉	0.2-50	96.2-103.6	0.9997	0.06	2.38

2.3 加标回收率及重复性考察

取吗啉硝唑氯化钠注射液，对样品进行低、中、高三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。低、中、高三个加标浓度分别为 0.1、1 和 4 $\mu\text{g/g}$ 。三水平加标回收率及重复性结果见表 4。

表 4 回收率结果 (n=3)

No.	化合物名称	0.1 $\mu\text{g/g}$		1 $\mu\text{g/g}$		4 $\mu\text{g/g}$	
		回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
1	N-亚硝基吗啉	95.3	2.4	98.8	2.3	96.9	3.1

■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 建立了吗啉硝唑氯化钠注射液中基因毒性杂质 N-亚硝基吗啉测定的方法。在 0.2-50 ng/mL 浓度范围内，线性良好，线性相关系数 R 为 0.9997。对样品进行 0.1、1 和 4 $\mu\text{g/g}$ 三个浓度加标回收实验，回收率在 95.3%-98.8% 之间。该方法灵敏度高，定量准确度高，前处理简便，适用于吗啉硝唑氯化钠注射液中 N-亚硝基吗啉的检测。

岛津应用云

