

GCMS 法测定二甲双胍药品中 NDMA 含量

GCMS-328

摘要：本文建立了气相色谱-质谱联用仪测定二甲双胍药品中 NDMA 含量的方法。结果表明：在 1~100 ng/mL 的浓度范围内，NDMA 的线性相关系数 r 为 0.999，各浓度点准确度在 90.0~108.3% 之间，线性关系良好。取 NDMA（浓度 2 ng/mL）标准溶液重复进样 6 次，与内标（NDMA-d6）峰面积比的相对标准偏差（RSD%）为 3.99%，精密度良好。实际样品在浓度 48 ng/g 的加标水平下，加标回收率为 93.0%。本方法操作简单方便，成本较低，可为二甲双胍中 NDMA 的测定提供参考。

关键词：二甲双胍 NDMA 气相色谱-质谱联用仪

NDMA, N-亚硝基二甲胺, 是遗传毒性杂质的一种, 属于 2A 类致癌物, 在水和食品中均有发现, 比如熏肉、烤肉、奶制品等。最早在药品中被发现是 2018 年 07 月, EMA 发布公告称其在抗压药缬沙坦中检出 NDMA, 引起社会的广泛关注, 并给相关企业造成巨大损失。紧接着, 2019 年 9 月 FDA、EMA 均发布治疗高胃酸分泌疾病药物雷尼替丁中检出 NDMA 的公告, 2019 年 12 月 FDA、EMA 接连发文称在二甲双胍糖尿病药物中

发现 NDMA。

参考 FDA 和中国药典的方法, 缬沙坦中 NDMA 可以采用顶空 +GCMS 进行检测, 雷尼替丁由于结构的特殊性, 其中 NDMA 采用 LC-MS/MS 检测, 以上两种方法岛津均已完整解决方案, 二甲双胍成分与其不同, 可以经盐酸溶液溶解, 二氯甲烷提取后, 直接使用 GCMS 进行检测。

实验部分

1.1 仪器

气相色谱-质谱联用仪: GCMS-QP2020 NX

1.2 分析条件

色谱柱: VF-Wax MS, 30 m×0.25 mm×1 μm

柱温程序:

40°C (0.5 min)_20°C /min_200°C _60°C /min_250°C (3min)

载气控制方式: 恒线速度 (36.1 cm/sec)

进样方式: 不分流进样

进样量: 2 μL

离子源温度: 230°C

接口温度: 240°C

检测器电压: 调谐电压 + 0.3kV

采集方式: SIM (具体参数见表 1)

1.3 样品前处理

粉碎样品, 准确称取二甲双胍质量为 0.5 g 的样品至 50 mL 离心管中, 加入 1N 盐酸溶液 10 mL, 涡旋混合, 振摇 10min, 加入内标溶液 10 mL (NDMA-d6 的二氯甲烷溶液, 浓度为 50 ng/mL), 涡旋混合, 振摇 10min。采用 4000 rpm 离心 10min, 吸取有机相经 0.22 μm 滤膜过滤, 收集滤液, 采用 GCMS 分析。

结果与讨论

2.1 标准品图谱

配制 NDMA 浓度为 1 ng/mL 的标准溶液，根据 1.2 中分析条件上机分析，得到 SIM 图如图 1 所示，相关化合物信息见表 1 所示。

表 1 NDMA 及内标相关信息

No.	名称	保留时间 (min)	CAS 号	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	NDMA-d6	7.596	17829-05-9	80	46
2	NDMA	7.609	62-75-9	74	42

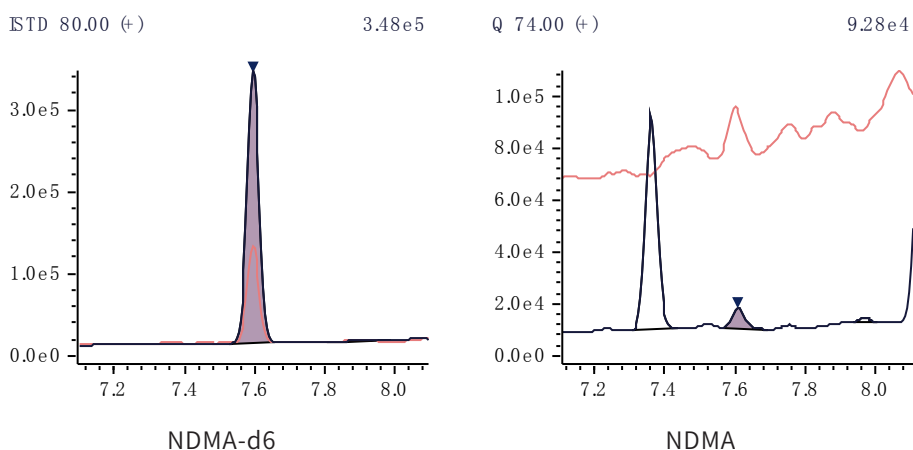


图 1 NDMA 及内标 SIM 图 (NDMA-d6 浓度为 50 ng/mL, NDMA 浓度为 1 ng/mL)

2.2 校准曲线与检出限

配制 7 个不同浓度的标准品溶液，制作校准曲线，浓度分别为 1、2.5、5、10、20、50 和 100 ng/mL。以目标组分与内标浓度的比值为横坐标，目标组分与内标峰面积的比值为纵坐标，绘制校准曲线，见图 2。线性相关系数、准确性和最低点信噪比见表 2

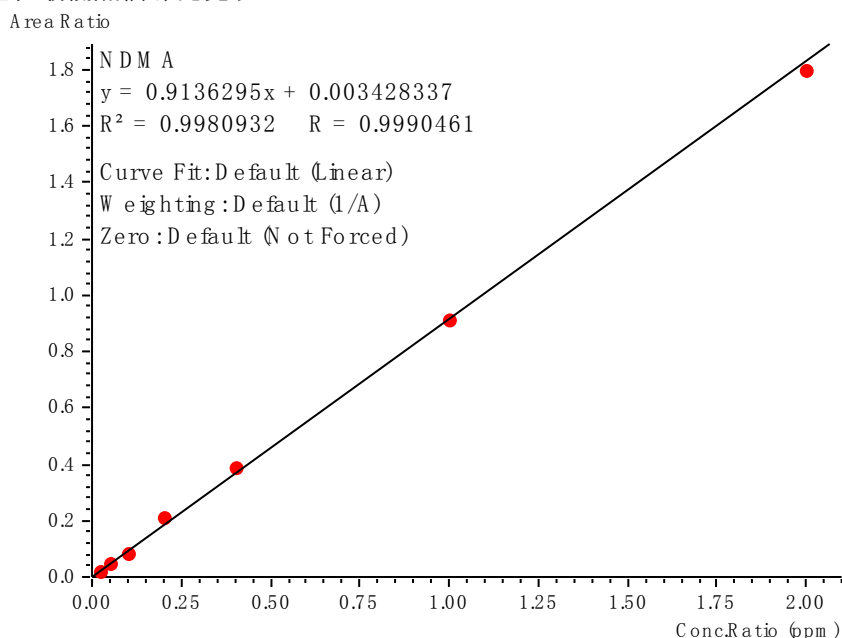


图 2 NDMA 校准曲线

表 2 NDMA 线性相关系数、准确度及信噪比 (1 ng/mL)

化合物	校准曲线	准确度 (%)	相关系数 r	S/N
NDMA	$Y = (0.9941212)X + (0.00001178)$	90.0~108.3	0.9990	16.2

2.3 重复性结果

取浓度为 2 ng/mL 的 NDMA 标准溶液, 重复进样 6 次, NDMA 与内标的峰面积比及 RSD% 见表 3。

表 3 重复性实验结果 (n=6)

No.	化合物名称	峰面积比						RSD%
		1	2	3	4	5	6	
1	NDMA	0.03511	0.03528	0.03417	0.03837	0.03530	0.03578	3.99

2.4 样品测试结果及回收率

FDA 对药品中 NDMA 限值为 96 ng/d, 大部分二甲双胍每天最大允许摄入量为 2 g, 计算得到每克样品中的 NDMA 最大允许含量为 48 ng, 确定加标浓度为 48 ng/g。实际样品 SIM 图见图 3, 样品中 NDMA 浓度及加标回收率见表 4

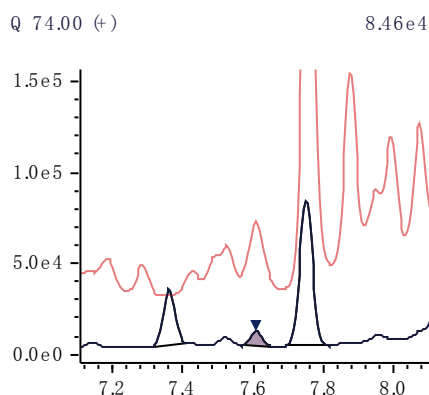


图 3 实际样品 SIM 图

表 4 样品测试结果及加标 (48 ng/g) 回收率

No.	化合物名称	样品浓度 (ng/g)	加标后浓度 (ng/g)			平均回收率 (%)	RSD(%)
			1	2	3		
1	NDMA	68.0	117.2	113.6	108.0	93.70	4.11

结论

本方法采用岛津公司气相色谱-质谱联用仪 (GCMS-QP2020 NX) 测定二甲双胍药品中 NDMA 含量。结果表明: 在 1~100 ng/mL 的浓度范围内, NDMA 的线性相关系数 r 为 0.999, 各浓度点准确度在 90.0~108.3% 之间, 线性关系良好。取 NDMA (浓度 2 ng/mL) 标准溶液重复进样 6 次, 与内标峰面积比的相对标准偏差 (RSD%) 为 3.99%, 精密度良好。实际二甲双胍样品在 48ng/g 加标水平下, 加标回收率为 93.0%。本方法操作简单方便, 成本较低, 可为二甲双胍片中 NDMA 的测定提供参考。

岛津应用云

