

GCMSMS 法测定盐酸二甲双胍中 NDMA 含量

GCMSMS-285

摘要：本文利用岛津 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气质联用仪，建立了盐酸二甲双胍缓释片中遗传毒性杂质 N-亚硝基二甲胺 (NDMA) 的检测方法。该方法参考中检院的测试条件与前处理方法，在 0.25~50 ng/mL 浓度范围内，NDMA 线性关系良好，相关系数达到 0.9999 以上，仪器检出限为 0.010 ng/mL。取浓度为 0.5 ng/mL 的标准品溶液连续进样 7 针，NDMA 峰面积 RSD 小于 3%。加标实验中，回收率为 92.21%。该方法简单方便，抗干扰能力强，灵敏度好，可用于实际样品的检测。

关键词：气相色谱三重四极杆质谱联用仪 盐酸二甲双胍 遗传毒性杂质 NDMA

技术特点：

- ❖ 采用溶剂提取，前处理操作更加简单方便。
- ❖ 使用液体进样结合 GCMSMS 法测定盐酸二甲双胍缓释片中遗传毒性杂质 NDMA。

遗传毒性杂质，是指化合物本身直接或间接损伤细胞 DNA，能产生基因突变或体内诱变，具有致癌可能。N-二甲基亚硝胺 (NDMA)，又名 N-亚硝基二甲胺，是由二甲胺与亚硝酸盐在酸性条件下反应而生成黄色液体。这类化合物广泛存在于食品、饮用水和外界环境中。

2018 年 7 月，EMA 发布公告称 NDMA 在抗高血压药缬沙坦中检出 NDMA，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。而二甲双胍药物由于治疗需要服用的剂量大，且需要长期服用，所以对其中的遗传毒

性杂质检测要求更为严格。FDA 规定药品中 NDMA 的每日摄入量不得超过 96 ng，按照大部分二甲双胍每日最大服用量 2 g 计算，二甲双胍中 NDMA 的限量值为 48 ng/g。

目前中检院已发布盐酸二甲双胍检测的推荐方法。本文参考中检院分析方法，采用岛津 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气质联用仪，建立了盐酸二甲双胍缓释片中遗传毒性杂质 N-亚硝基二甲胺 (NDMA) 的检测方法。本方法简单方便，灵敏度高，重复性好，供相关检测人员参考。

■ 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-PolarWax, 30 m×0.25 mm× 0.25 μm		
柱 温 程 序：	40°C (0.5 min)_20°C /min_200°C _ 60°C /min_240°C (5 min)		
进 样 口 温 度：	250°C	离 子 化 方 式：	EI
进 样 方 式：	不分流进样	离 子 源 温 度：	250°C
压 力：	49.5 kPa	色 谱 质 谱 接 口 温 度：	250°C
进 样 量：	1 μL	检 测 器 电 压：	调谐电压 +0.8 kV
载 气 控 制 方 式：	恒线速度方式	采 集 模 式：	MRM, 离子对信息见表 1
线 速 度：	36.1 cm/sec		

■ 样品前处理

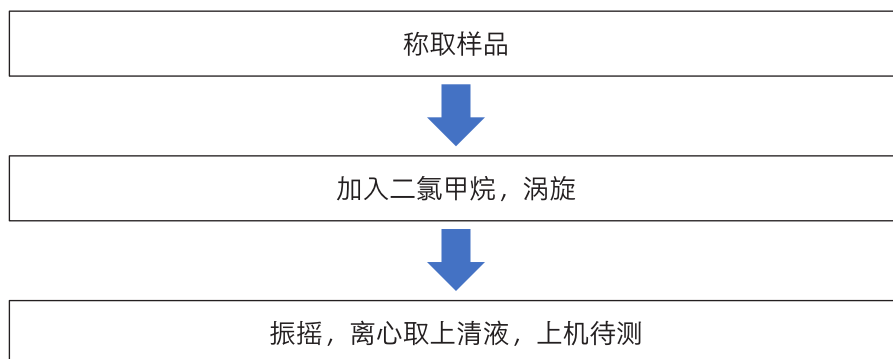


图 1 前处理流程图

■ 结果与讨论

3.1 NDMA 标准溶液色谱图

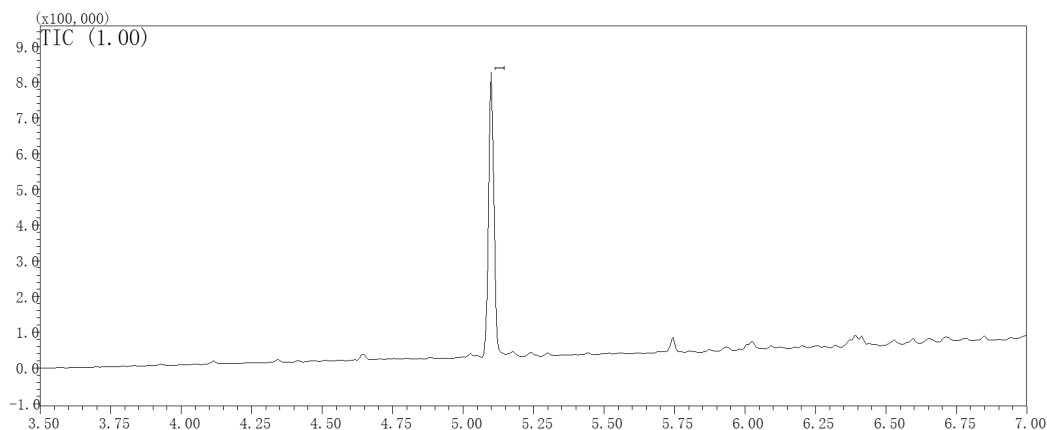


图 2 NDMA 标准溶液色谱图 (50 ng/mL)

表 1 NDMA 组分信息

No.	名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子对	CE	定性离子对	CE
1	NDMA	62-75-9	5.100	74.00>44.00	6	74.00>42.00	21

3.2 标准曲线和检出限

分别配制 0.25、0.5、1、2.5、5、10、20、50 ng/mL 的 NDMA 标准溶液，取 1 μ L 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标拟合标准曲线，NDMA 标准曲线如图 3 所示，线性相关系数见表 2。质量色谱图见图 4。以浓度为 0.25 ng/mL 标准混合溶液进样分析，以 3 倍信噪比计算 NDMA 仪器检出限，化合物线性相关系数及检出限如表 2 所示。

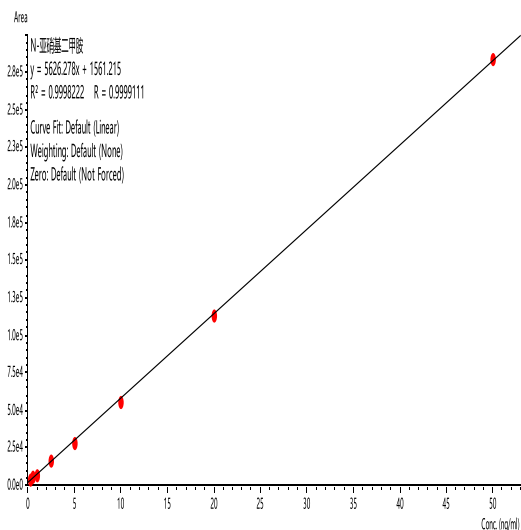


图3 NDMA 标准曲线

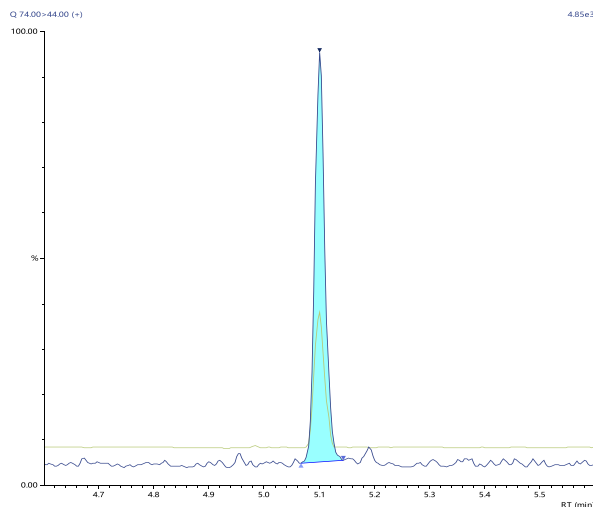


图4 NDMA 标准品溶液质量色谱图 (0.5 ng/mL)

表2 NDMA 相关系数及检出限

No.	化合物名称	相关系数 (R)	检出限 (ng/mL)
1	NDMA	0.99991	0.010

3.3 重复性实验

取 0.5 ng/mL 标准品混合溶液，连续进样 7 次，考察仪器的重复性，峰面积 RSD% 结果见表 3。

表3 NDMA 重复性结果 (n=7)

No.	化合物名称	峰面积							RSD (%)
		平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平行 7	
1	NDMA	8372	8065	7968	8596	8189	8236	8242	2.48

3.4 加标回收率

取盐酸二甲双胍缓释片药物，参照文中所述方法进行前处理后，测定其中 NDMA 浓度，作为空白样品背景含量。另取相同质量样品进行 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度加标实验，按照相同前处理方法处理后上机，平行 6 份样品考察回收率和 RSD，具体结果如下：30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度的加标回收率在 92.21%，RSD 为 4.62%，样品加标回收率结果见表 4。

表4 样品加标回收率测定结果

No.	化合物名称	30 $\mu\text{g}/\text{kg}$		
		平均回收率 (%)	RSD (%)	空白背景含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	NDMA	92.21	4.62	1.6

3.5 实际样品检测结果

某市售盐酸二甲双胍缓释片药物，按照前处理流程进行提取，上机分析。该样品色谱图见图 5，样品中检测到 NDMA，其浓度为 1.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。



图5 样品色谱图

■ 结论

本方法采用 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱 - 质谱联用仪，建立了盐酸二甲双胍缓释片中遗传毒性杂质 N-亚硝基二甲胺（NDMA）的检测方法。在 0.25~50 ng/mL 浓度范围内，NDMA 线性关系良好，相关系数达到 0.9999 以上，仪器检出限为 0.010 ng/mL。取浓度为 0.5 ng/mL 的标准品溶液连续进样 7 针，NDMA 峰面积 RSD 小于 3%。加标实验中，回收率在 92.21%。该方法简单方便，抗干扰能力强，灵敏度好，可用于实际样品的检测。

岛津应用云

