

## LC-MS/MS法测定盐酸二甲双胍中N-亚硝基二甲胺

### Determination of NDMA in Metformin Hydrochloride by LC-MS/MS

冷向阳, 龙志敏, 郭立海

Leng Xiangyang, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

**Key words:** NDMA、Metformin、SCIEX Triple Quad™ 3500 系统

2019年12月5日, 继“缬沙坦事件”、“雷尼替丁事件”之后, 美国FDA宣布开始测试二甲双胍的样品是否含有超过限度的致癌物N-亚硝基二甲胺(NDMA)。

NDMA作为已知的2A类致癌物质, 在很低浓度时即可造成人体遗传物质的损伤, 具有致癌、致突变的特点。其常存在于谷物、烟酒、熏肉以及饮水中, 也常被用作有机合成的中间体。

二甲双胍是2型糖尿病早期的标准药物, 作为治疗2型糖尿病的权威用药, 在国内外多种治疗指南中被列为一线降糖药物, 具有降糖作用确切, 低血糖风险小, 价格低廉等优点, 是目前应用最为广泛的甲类降糖药物之一。在二甲双胍中检测出NDMA可能会对用药安全性产生较大威胁, 因此在药物中准确的测定其含量显的至关重要, 但由于其分子量小, 亲水性强, 对灵敏度要求高, 这都加大了检测的难度。

针对二甲双胍中NDMA的检测, 本文建立了使用三重四极杆质谱(SCIEX Triple Quad™ 3500 系统)用于盐酸二甲双胍中NDMA的检测方案, 本方法的定量下限可低至为0.5 ng/ml(相当于50.0 mg/mL二甲双胍样品中含有NDMA的量分别为为0.01 µg/g), 仪器的灵敏度高, 重现性好, 可以满足NDMA的检测需求, 本方法适合于原料药、片剂、胶囊等剂型检测。

#### 仪器设备

Exion LC™ AD 系统 + SCIEX Triple Quad™ 3500 系统



#### 液相方法

色谱柱: ACE 3 C18 150 × 4.6 mm

流动相: A相: 水(0.1%甲酸)

B相: 甲醇

流速: 0.8 ml/min;

柱温: 40°C;

流动相梯度:

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	95	5
3.00	95	5
6.00	80	20
8.00	80	20
8.1	95	5
11.00	95	5

表1. NDMA的质谱参数。

Compound	Q1	Q3	DP	CE
N-亚硝基二甲胺(NDMA) 1	75.1	43.0	20	19
N-亚硝基二甲胺(NDMA) 2	75.1	58.0	20	16

## 质谱方法

离子源: APCI源, 正离子模式

离子源参数:

NC电流: 3  $\mu$ A

气帘气 CUR: 30 psi

雾化气 GS1: 35 psi

碰撞气 CAD: 8

源温度 TEM: 350 $^{\circ}$ C

## 盐酸二甲双胍供试品溶液制备:

称取500 mg 供试品 置10 ml 量瓶, 加入水震荡摇匀, 在加入水至刻度。取上清液于离心管中, 于15000 rpm下, 离心 20 min, 取上清液经0.22  $\mu$ m PVDF滤膜进行过滤, 即可, 配制得到溶液终浓度为50 mg/ml。

## 实验结果

1. **灵敏度和重复性**: NDMA的最低定量下限为0.5 ng/ml, 典型色谱图见图1; 最低定量下限样品连续进样6针, RSD为5.0%。

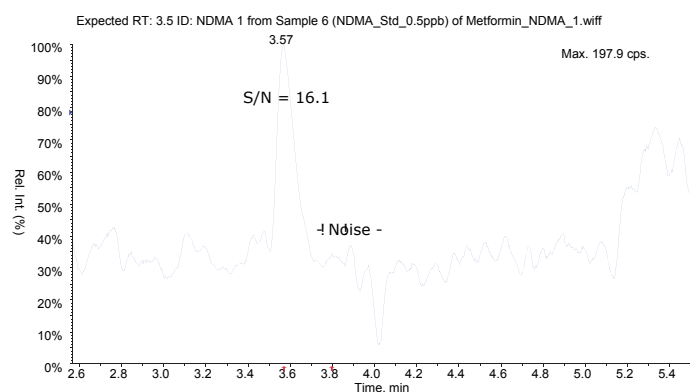


图1. NDMA最低定量限色谱图。

2. **线性范围**: 用纯水逐级稀释NDMA标准工作溶液至0.5 ng/mL, 1.0 ng/mL, 2.0 ng/mL, 5.0 ng/mL, 20 ng/mL、100 ng/mL和200 ng/ml分别进样分析, 以峰面积对浓度做标准曲线, 在线性范围内线性关系良好, 相关系数大于0.999, 标曲各点准确度在101.1%-111.3%之间。图2为NDMA的标准曲线和相关系数。

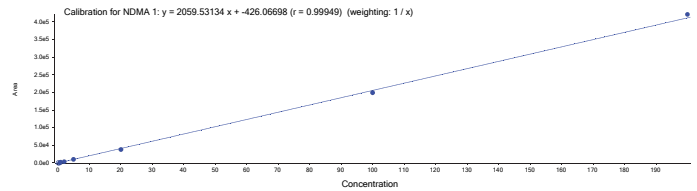


图2. NDMA的标准曲线图。

3. **加标回收率**: 取配制好的50 mg/ml的盐酸二甲双胍供试品溶液, 加入NDMA标准工作溶液, 配制成浓度分别为0.5 ng/mL和5.0 ng/mL的加标样品, 加标溶液平行制备六份, 测定结果见表2。NDMA两个不同浓度样品的回收率在97.4-103.2%, 平行样品的RSD%在2-6.5%, 回收率和RSD%均满足测试求。

表2. 加标回收率测试结果。

Compound	0.5ng/ml		5ng/ml	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
NDMA	97.7	6.5	103.2	2.8

4. **专属性**: 以a. 水溶液、 b.0.5ng/ml NDMA标准工作溶液、 c.50mg/ml盐酸二甲双胍供试品溶液、 d. 50mg/ml盐酸二甲双胍供试品溶液添加5 ng/ml NDMA标准溶液来考察此方法的专属性, 结果见图3。空白溶剂中未检出NDMA; 某品牌盐酸二甲双胍中未检出NDMA。

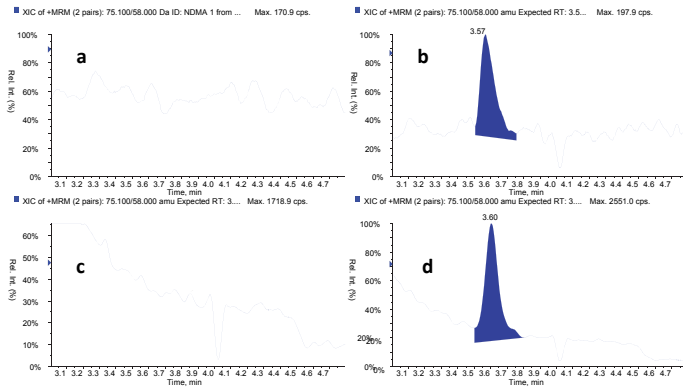


图3. 四个样品色谱图。

## 总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 3500 系统建立了测定二甲双胍中NDMA的LC-MS/MS方法。结果表明，本方法特异性好、无干扰，在线性范围内线性关系良好，同时两种方法也均具有较好的灵敏度和较低的限度水平，完全可以满足目前关于NDMA检测要求。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在和美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-10939-ZH-A



### SCIEX中国公司

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)