

## LC-MS/MS法测定盐酸雷尼替丁中N-亚硝基二甲胺

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

冷向阳, 陈慧敏, 龙志敏, 郭立海

Leng Xiangyang, Chen Huimin, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX中国应用支持中心

SCIEX China Support Center

**Key Words:** NDMA; Ranitidine hydrochloride; Triple Quad™ 3500; X500

9月13日, 美国FDA发布公告称, 多个品牌生产的雷尼替丁中可能含有致癌物N-亚硝基二甲胺 (NDMA), 这已经不是第一次在药品中检测NDMA了, 继去年的“缬沙坦”事件后, NDMA又一次走了我们的视野。

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。

雷尼替丁, 为强效组胺H<sub>2</sub>受体拮抗剂, 能有效地抑制组胺、五肽胃泌素和氨甲酰胆碱刺激后引起的胃酸分泌, 降低胃酸和胃酶活性, 主要用于胃酸过多、烧心等症状, 也是目前比较主流的治疗溃疡病的药品。在雷尼替丁中检测出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得至关重要, 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。

针对此次“雷尼替丁”事件, 本文同时建立了使用三重四极杆质谱 (Triple Quad™ 3500) 和Q-TOF高分辨质谱 (X500系列) 用于盐酸雷尼替丁中NDMA的检测方案, 本方法的定量下限可低至为0.2 ng/ml和0.5 ng/ml (相当于10.0 mg/mL雷尼替丁样品中含有NDMA的量分别为0.02 μg/g和0.05 μg/g, 低于目前的临时限度要求), 仪器的灵敏度高, 重现性好, 可以满足NDMA的检测需求。

Triple Quad™ 3500测定盐酸雷尼替丁中的NDMA

#### 仪器设备

SCIEX ExionLC™液相系统 + Triple Quad™ 3500质谱系统



#### 液相方法

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5 100×3.0 mm, 2.6 μm 100A

流动相: A相: 水 (0.1%甲酸)

B相: 甲醇

流速: 0.5 ml/min

柱温: 40°C;

流动相梯度:

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	95	5
1.00	95	5
5.00	5	95
6.00	5	95
6.10	95	5
7.00	95	5

## 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

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

盐酸雷尼替丁供试品溶液制备:

称取本品内容物适量, 按照100:1的比例加入甲醇, 涡旋1 min, 超声20 min, 静置5 min, 取上清液于离心管中, 于15000 rpm下, 离心20 min, 取上清液, 按照10:1比例加入纯水, 涡旋1 min, 超声10 min, 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10 mg/ml。

## 实验结果

### 1. 灵敏度和重复性:

NDMA的最低定量下限为0.2 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4.9%。

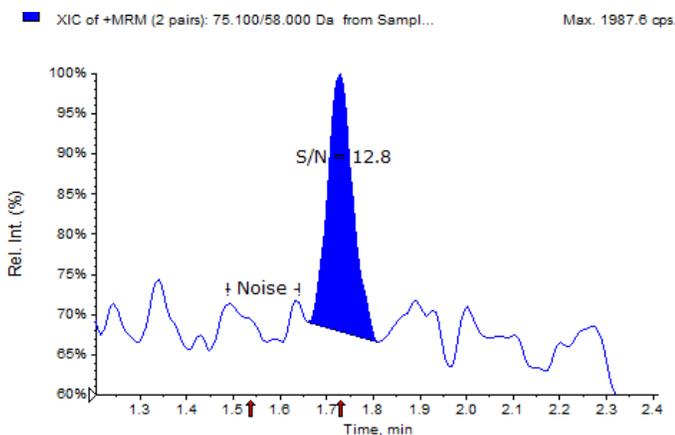


图1. NDMA最低定量限色谱图。

### 2. 线性范围:

用纯水逐级稀释NDMA标准工作溶液至0.2 ng/mL, 0.5 ng/mL, 1.0 ng/mL, 2.0 ng/mL, 10 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93.3%-110.3%之间。图2为NDMA的标准曲线和相关系数。

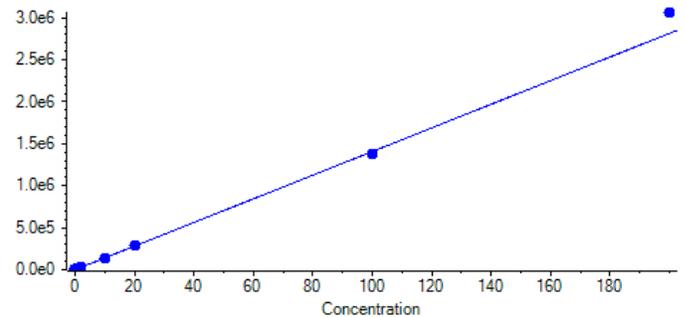


图2. NDMA的标准曲线图。

### 3. 加标回收率:

取配制好的10 mg/ml的盐酸雷尼替丁供试品溶液, 加入NDMA标准工作溶液, 配制成浓度分别为0.5 ng/mL和20.0 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95.4-101.6%, 平行样品的RSD%在0.59-1.38%, 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		20ng/ml	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
NDMA	100.9	0.59	96.9	1.38

### 4. 专属性

以a.10%甲醇水溶液 b.0.2 ng/ml NDMA标准工作溶液 c.10 mg/ml 盐酸雷尼替丁供试品溶液 d. 10 mg/ml盐酸雷尼替丁供试品溶液添加20 ng/mlNDMA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; 某品牌盐酸雷尼替丁中检测到NDMA的浓度约为29.92 ng/ml (相当于样品中NDMA的含量为2.992  $\mu$ g/g, 超出目前已有的关于NDMA的限度要求)。

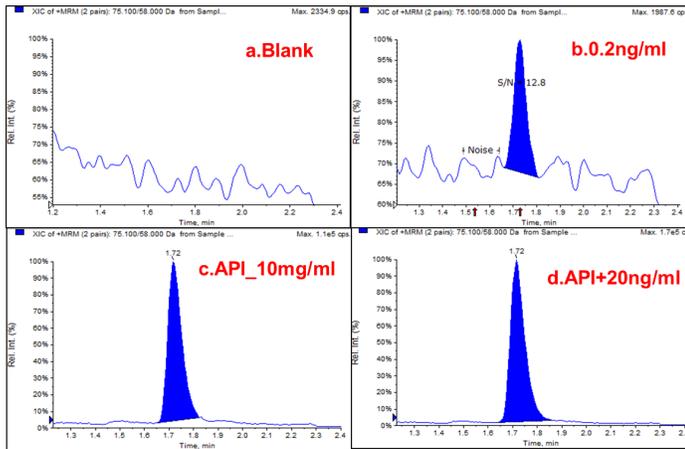


图3. 四个样品色谱图。

### X500高分辨系统测定盐酸雷尼替丁中的NDMA

使用SCIEX X500高分辨系统用于雷尼替丁中NDMA的检测时，在对未知样品使用SCIEX 优异的高分辨定量模式—MRM<sup>HR</sup>模式（类似于MRM模式）完成定量的同时，也可以同时获得高分辨的一级和二级谱图，通过精确的一级质荷比及与标准谱库进行匹配后，可以完成实际样品中的NDMA的定性工作，达到定性定量同时完成，保证检测结果的准确性。

## 仪器设备

SCIEX ExionLC™液相系统 + X500高分辨质谱系统



液相方法与质谱方法与上述相同

## 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3；最低定量下限样品连续进样6针，RSD为4.12%。

0.5ppb - NDMA (Standard) 58....ul.wiff2). (sample Index: 4)  
Area: 5.255e2, Height: 1.466e2, RT: 1.68 min

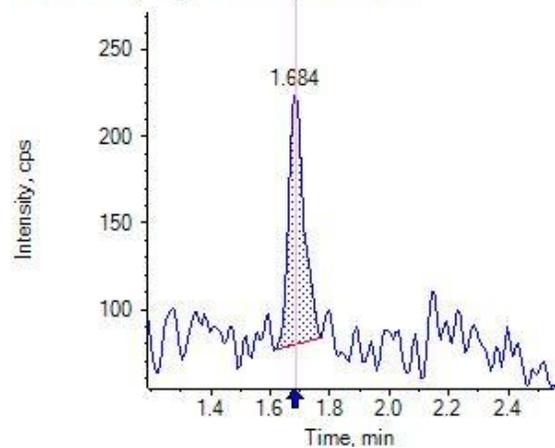


图4. 碎片离子为m/z 58.0532的提取离子流色谱图。

### 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, 10 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91.9%-108.0%之间。图2为NDMA的标准曲线和相关系数。

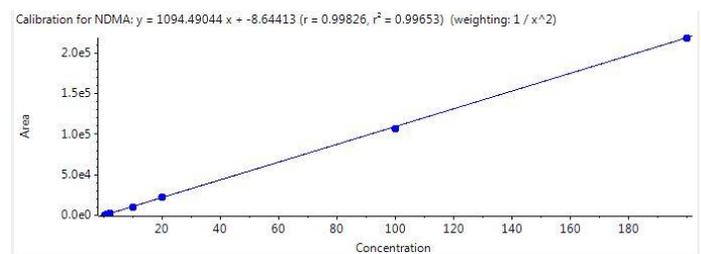


图5. NDMA的标准曲线图。

### 3. 加标回收率:

取配制好的10 mg/ml的盐酸雷尼替丁供试品溶液，加入NDMA标准工作溶液，配制成浓度分别为0.5 ng/mL和20.0 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96.8-103.5%，平行样品的RSD%在0.59-1.38%，回收率和RSD%均满足测试求。

表2 加标回收率测试结果。

Compound	0.5 ng/ml		20 ng/ml	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
NDMA	99.0	2.40	98.8	0.95

#### 4. 专属性

以a.10%甲醇水溶液 b.0.2 ng/ml NDMA标准工作溶液 c.10 mg/ml 盐酸雷尼替丁供试品溶液 d. 10 mg/ml盐酸雷尼替丁供试品溶液添加20 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；某品牌盐酸雷尼替丁中检测到NDMA的浓度约为32.88 ng/ml（相当于样品中NDMA的含量为3.288 μg/g，超出目前已有的关于NDMA的限度要求）。

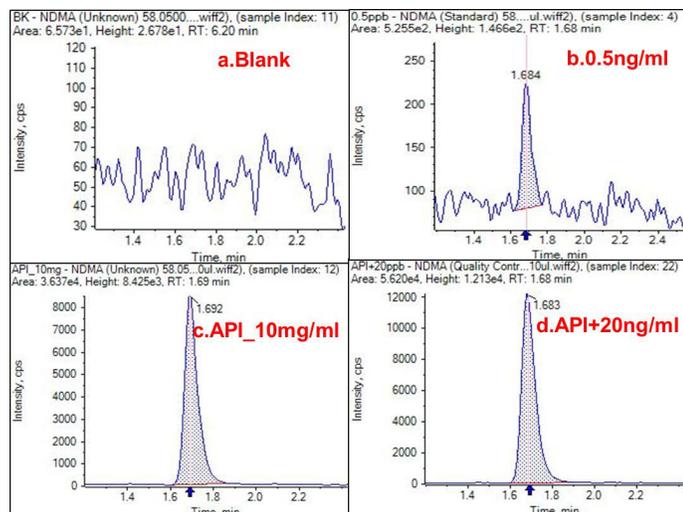


图6. 四个样品色谱图。

#### 4. 定性:

X500高分辨系统完成定量的同时，也可以同时获得高分辨率的一级和二级谱图，通过精确的一级质荷比及与标准谱库进行匹配后，可以完成实际样品中的NDMA的定性工作，达到定性定量同时完成，保证检测结果的准确性。

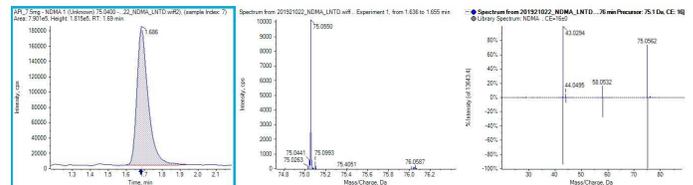


图7. 谱库匹配。

#### 总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 3500和X500 高分辨质谱建立了测定雷尼替丁中NDMA的LC-MS/MS方法。结果表明，两种方法特异性好、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。

The SCIEX clinical diagnostic portfolio is For In Vitro Diagnostic Use. Rx Only. Product(s) not available in all countries. For information on availability, please contact your local sales representative or refer to <https://sciex.com/diagnostics>. All other products are For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures. AB SCIEX™ is being used under license.

© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-10575-ZH-A



#### SCIEX中国公司

北京分公司  
地址：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

上海公司及中国区应用支持中心  
地址：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

广州分公司  
地址：广州市天河区珠江江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510 0200  
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897 网址：sciex.com.cn 官方微信：ABSciex-China