

## 应用ACQUITY UPLC /Xevo G2-S QToF系统测定盐酸美金刚片中N-(二甲基金刚烷)甘氨酸(DMAG)的含量

王志英  
沃特世科技(上海)有限公司

### 应用优势

- 使用亚2  $\mu\text{m}$ 的色谱柱, 分析时间由30 min缩短至5 min, 提高分析效率。
- Xevo® G2-S QToF可用来定量测定, 其灵敏度高, 柱上样量1 pg也可被定量检测; 重现性好, 三针重现性%RSD=0.47%; 线性好, 浓度在1~5000 ng/mL浓度范围内, 线性方程系数R=0.9994。
- MassLynx®/TargetLynx™软件应用简便, 自动计算线性及样品中含量。

### 沃特世解决方案

ACQUITY UPLC®

Xevo G2-S QToF质谱仪

MassLynx、TargetLynx软件

BEH C<sub>18</sub> (100 x 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱

### 关键词

UPLC®, QToF, 杂质鉴定、MassLynx、TargetLynx、盐酸美金刚、Memantine hydrochloride、N-(二甲基金刚烷)甘氨酸、DMAG

### 前言

盐酸美金刚(Memantine hydrochloride)为抗老年痴呆药物, 是第一个对老年痴呆症有显著疗效的N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)拮抗药, 它可以改善记忆过程所需谷氨酸的传递, 并具有一定的耐受性。它是美国联邦食品和药品管理局(FDA)批准治疗中度与重度老年痴呆症的第一种药物。

N-(二甲基金刚烷)甘氨酸(DMAG)是盐酸美金刚片中已知的杂质之一, 在国家局发布的进口药品注册标准(JX20120025)中规定其含量不得过0.5%。DMAG本身无紫外吸收, 进口药品注册标准中采用加内标的质谱方法检测, 检测时间需30 min, 本应用纪要直接采用外标法进行N-(二甲基金刚烷)甘氨酸的检测。

Xevo G2-S QToF可得到最准确的分子量, 具有卓越的定性性能, 同时它也有优良的定量能力。本方案应用Xevo G2-S QToF的定量能力来检测盐酸美金刚片中N-(二甲基金刚烷)甘氨酸的含量。利于Xevo G2-S QToF的定量方式为: 对样品进行全扫描(full scan), 再从得到的数据中提取关注的分子量进行处理计算。这种定量检测方式有几个好处, 一是全扫描的数据可得到样品最全面的信息, 让我们对样品更了解; 二是更有利于开发方法, 很方便就看出是否有共流出干扰, 保证方法的稳定性和可靠性; 三是一次可以对无数个化合物进行定量检测; 四是若事后出现事故调查时, 可从已有数据中得到更多信息。

实验条件

LC / UPLC 条件

LC系统: ACQUITY UPLC  
色谱柱: BEHC<sub>18</sub>, 100 x 2.1 mm, 1.7 μm  
(Part No.: 186002352)  
柱温: 40 °C  
进样量: 3 μL  
流速: 0.3 mL/min  
流动相 A: 0.1%FA in H<sub>2</sub>O  
流动相 B: 0.1%FA in MeOH  
梯度:

Time	Flow	%A	%B	Curve
0	0.300	70.0	30.0	6
1.04	0.300	40.0	60.0	6
1.55	0.300	40.0	60.0	6
2.00	0.300	20.0	80.0	6
3.30	0.300	20.0	80.0	6
5.00	0.300	70.0	30.0	1

MS 条件

MS系统: Xevo G2-S QTof  
离子化模式: ESI+  
毛细管电压: 1.0 KV  
源温度: 80 °C  
雾化气温度: 250 °C  
雾化气流速: 500 L/h  
锥孔气流速: 50 L/h  
采集模式: Scan

PDA检测器

紫外检测波长: 293 nm

软件

MassLynx、TargetLynx

样品制备: 取盐酸美金刚片1片, 精密加甲醇-水(50: 50)1mL, 涡旋2次, 每次5秒, 两次间隔1 min, 确保样品完全崩解后, 经0.22 μm 微孔滤膜滤过, 精密量取续滤液10 μL, 置1.5 mL进样瓶中, 精密加入甲醇-水(50:50)990 μL, 混匀, 即得。对照溶液的配制: 分别配置包含相同浓度的盐酸美金刚和N-(二甲基金刚烷)甘氨酸对照品混合溶液, 稀释剂为甲醇-水(50:50), 1到10号对照品溶液浓度如表1。

表1. 1~10号对照品溶液中含有盐酸美金刚和N-(二甲基金刚烷)甘氨酸的浓度

对照品 溶液 编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
浓度 ng/mL	5000	2500	1000	500	250	100	50	25	10	1

结果与讨论

进口药品注册标准中采集的方法时间较长, 为30 min一针, 改用1.7 μm的BEHC<sub>18</sub> 100 x 2.1 mm色谱柱, 应用HPLC到UPLC的方法转换器将方法进行同步转换, 采集时间可缩短至5 min. 并且将流动相中的三氟乙酸改为甲酸的溶液。DMAG和盐酸美金刚分离度良好, 如图1。

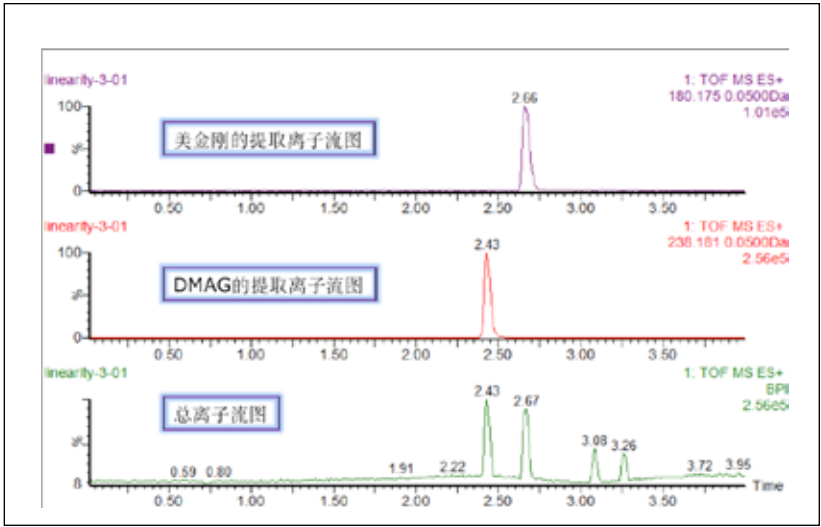


图1. 对照品溶液3的质谱总离子流图、DMAG的提取离子流图、美金刚的提取离子流图。

灵敏度测试: 对照品10号溶液, 即DMAG的含量为1 ng/mL, 进3  $\mu$ L时, S/N(PtP)=41.7; 当进样量改为1  $\mu$ L时, S/N(PtP)=10.9, 此时柱上样量为1 pg, 此浓度可作为定量限, 如图2。

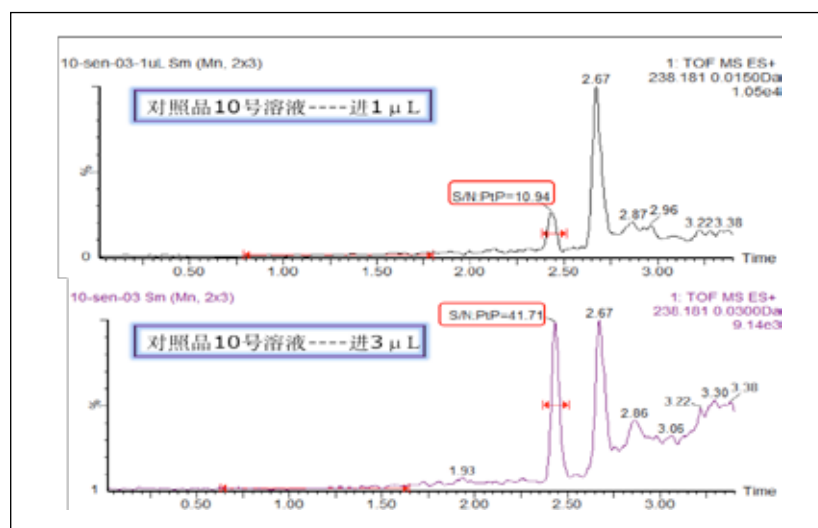


图2.DMAG的提取离子流图: 对照品10号溶液进3 $\mu$ L、对照品10号溶液进1 $\mu$ L。

重现性: 进9号对照品溶液, 即DMAG浓度为10 ng/mL, 重复进样三次, %RSD=0.47。TargetLynx可自动进行质量数提取、峰面积积分并计算, 如图3。

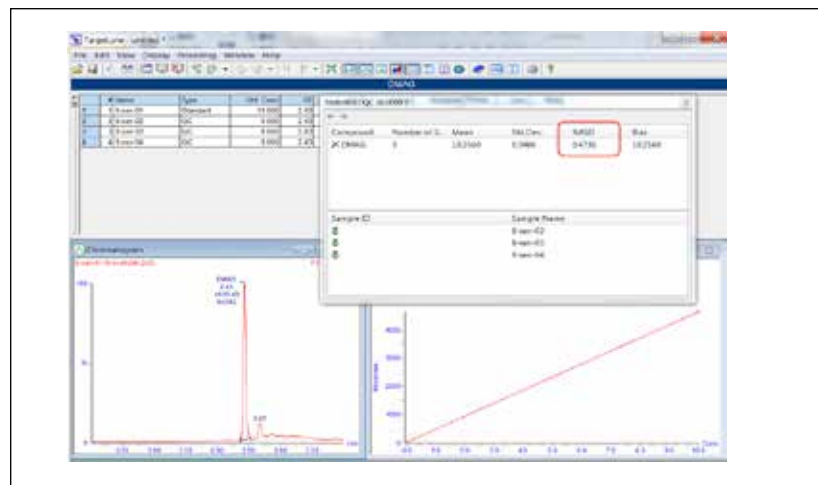


图3. TargetLynx软件对9号对照品溶液连续进三针所得DMAG自动计算%RSD。

线性: 采用进口注册标准中 $y=ax^2+bx+c$ 方式做回归曲线。所得结果如图4。应用软件自动计算线性, 得到的线性方程为 $y=-0.000919094X^2+15.9004X-1.93231$ ;  $r=0.9994$ ; TargetLynx界面简洁, 可从结果列表中快速读取线性方程信息及供试品中DMAG的含量。供试品盐酸美金刚中含有6.1 ng/mL的N-(二甲基金刚烷)甘氨酸。

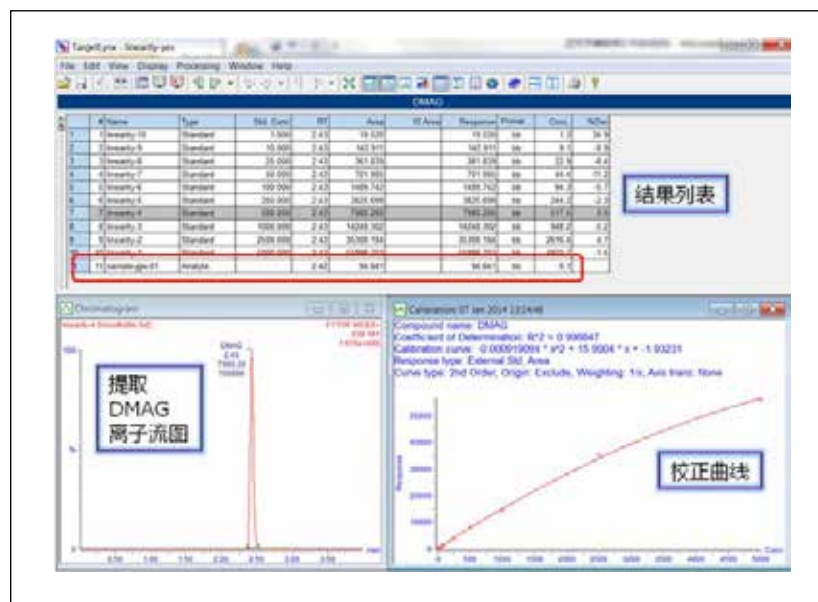


图4. TargetLynx软件自动线性回归, 自动计算出样品中含量。

## 结论

本实验将常规HPLC色谱柱检测方法平行转化为亚2  $\mu$ m的UPLC色谱柱检测, 分析时间由30 min缩短至5 min, 大大提高分析效率。Xevo G2-S QToF一方面可得到最准确的分子量用于化合物的定性, 同时在定量方面也表现突出。具有较高的灵敏度, N-(二甲基金刚烷)甘氨酸柱上样量1  $\mu$ g可被定量检测; 具有良好的重现性, 三针重现性%RSD=0.47%(10 ng/mL); 较宽的线性范围, 浓度在1~5000 ng/mL浓度范围内, 线性方程系数 $R=0.9994$ 。软件MassLynx/TargetLynx应用简便, 自动进行线性回归并计算样品中含量。所以说ACQUITY UPLC/Xevo G2-S QToF系统在定性和定量方面都表现出色, 完全可以满足药物研发、分析过程中需求。

# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, Xevo, MassLynx, ACQUITY UPLC, UPLC和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。TargetLynx是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2014年 沃特世公司  
2014年8月 印制于中国

沃特世中国有限公司  
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866  
上海: 021 - 6156 2666  
广州: 020 - 2829 5999  
成都: 028 - 6578 4990  
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676  
www.waters.com