

HPLC 法测定甲磺酸双氢麦角毒碱片中麦角类生物碱

李 卓¹, 陈 诚¹, 张 旭², 郭志渊¹, 刘 峰¹, 常艳波^{1*}

1. 四川省药品检验研究院 国家药品监督管理局药物制剂体内外相关性技术研究重点实验室, 四川 成都 611731

2. 德昌县人民医院, 四川 凉山 615500

摘 要: **目的** 建立 HPLC 法测定甲磺酸双氢麦角毒碱片中 4 种麦角类生物碱甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢- α -麦角隐亭、甲磺酸双氢- β -麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀。**方法** 使用 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 20 mmol/L 磷酸氢二铵缓冲液 (用氨试液调节 pH 值至 8.5) - 乙腈, 梯度洗脱; 检测波长: 280 nm; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μ L。**结果** 甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢- α -麦角隐亭、甲磺酸双氢- β -麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀均在 0.05~1.00 mg/mL 线性关系均良好 ($r=0.9999$), 平均回收率分别为 101.2%、101.3%、101.3%、101.2%, RSD 值分别为 1.65%、1.61%、1.66%、1.64% ($n=9$)。**结论** 建立了一种高效、准确且经济的 HPLC 分析方法, 为甲磺酸双氢麦角毒碱片的质量控制提供更可靠的技术支撑。

关键词: 甲磺酸双氢麦角毒碱片; 甲磺酸双氢麦角考宁; 甲磺酸双氢- α -麦角隐亭; 甲磺酸双氢- β -麦角隐亭; 甲磺酸双氢麦角汀; 高效液相色谱

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2025)12-3043-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.12.010

Determination of ergot alkaloids in Dihydroergotoxine Mesylate Tablets by HPLC

LI Zhuo¹, CHEN Cheng¹, ZHANG Xu², GUO Zhiyuan¹, LIU Feng¹, CHANG Yanbo¹

1. NMPA Key Laboratory for Technical Research on Drug Products in Vitro and in Vivo Correlation, Sichuan Institute for Drug Control, Chengdu 611731, China

2. Dechang People's Hospital, Liangshan 615500, China

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method to determine four ergot alkaloids dihydroergococaine mesylate, dihydro- α -ergocryptine mesylate, dihydro- β -ergocryptine mesylate, and dihydroergocristine mesylate in Dihydroergotoxine Mesylate Tablets. **Methods** Kromasil C₁₈ chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) was used with a mobile phase of 20 mmol/L ammonium phosphate (pH 8.5) - acetonitrile for gradient elution at a detection wavelength at 280 nm, column temperature set at 35 $^{\circ}$ C, flow rate of 1.0 mL/min, and injection volume of 20 μ L. **Results** Dihydroergococaine mesylate, dihydro- α -ergocryptine mesylate, dihydro- β -ergocryptine mesylate, and dihydroergocristine mesylate had good linear relationships in the concentration range of 0.05 to 1.00 mg/mL ($r = 0.9999$). Their average recovery rates were 101.2%, 101.3%, 101.3%, and 101.2%, and RSD values of 1.65%, 1.61%, 1.66%, and 1.64%, respectively ($n = 9$). **Conclusion** An efficient, accurate, and economical HPLC analysis method is established, providing more reliable technical support for the quality control of Dihydroergotoxine Mesylate Tablets.

Key words: Dihydroergotoxine Mesylate Tablets; dihydroergococaine mesylate; dihydro- α -ergocryptine mesylate; dihydro- β -ergocryptine mesylate; dihydroergocristine mesylate; HPLC

甲磺酸双氢麦角毒碱又名甲磺酸二氢麦角碱, 是天然麦角生物碱的 4 种双氢衍生物甲磺酸盐的等比例混合物, 包括甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢麦角汀、甲磺酸双氢- α -麦角隐亭、甲磺酸双氢- β -

麦角隐亭, 见图 1^[1]。甲磺酸双氢麦角毒碱用于年龄引起的精神退化、智力减退和老年痴呆等症状, 能够改善受损害的脑代谢功能, 并缩短脑循环时间^[2]。甲磺酸双氢麦角毒碱片执行卫生部颁标准 WS1-

收稿日期: 2025-06-06

基金项目: 国家药品标准制修订研究课题 (2023H032)

作者简介: 李 卓, 女, 主管药师, 硕士, 研究方向为药品质量控制。E-mail: 82939800@qq.com

*通信作者: 常艳波, 女, 主管药师, 博士, 研究方向为药物分析与药品质量。E-mail: 17150586@qq.com

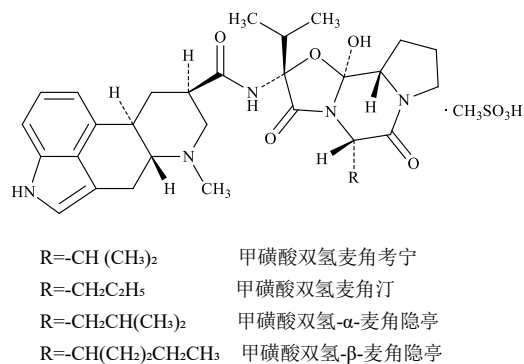


图 1 甲磺酸双氢麦角毒碱的结构

Fig. 1 Structure of dihydroergotamine mesylate

(X-075)-94Z^[3], USP-NF 有收载^[4]。甲磺酸双氢麦角毒碱片中主要成分甲磺酸双氢麦角毒碱为混合物, 含有 4 种结构不同的双氢麦角碱组分, 其中 2 种互为异构体。双氢麦角毒碱为碱性化合物, 与甲磺酸可成盐, 对甲磺酸双氢麦角毒碱的原料和制剂进行含量测定时, 需要对其所含 4 种生物碱进行完全分离, 以获得总碱及其组分的准确定量。目前国内药典标准、文献报道的方法多面临为了满足分离效果而使用高 pH 值的流动相导致方法耐用性差、色谱柱损耗严重的问题^[5-7]。本研究建立测定甲磺酸双氢麦角毒碱片中 4 种主要麦角类生物碱的 HPLC 方法, 为甲磺酸双氢麦角毒碱片的定量分析提供了一个更准确、高效和经济的解决方案。

1 仪器与试剂

NexeraXR 系列高效液相色谱仪, SPD-20A 紫外可见检测器, LabSolution 色谱工作站(日本岛津公司); Agilent 1260/1260 二维液相色谱系统、二极管阵列检测器, Agilent 6540 Q-TOF 质谱系统(美国 Agilent Technology 公司); S40 多参数测量酸度计(瑞士梅特勒-托利多公司); CP225D 电子天平(德国赛多利斯公司); KQ-100DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); LC-223 烘箱(上海爱斯佩克环境设备有限公司); Arium pro 超纯水仪(德国赛多利斯公司)。

甲磺酸双氢麦角毒碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 100035-201203, 质量分数 96.0%); 甲磺酸双氢麦角毒碱片(天津华津制药有限公司, 规格 1 mg/片, 产品批号 7J889T、7K894T、7C884T; 上海上药信谊药厂有限公司, 规格 1 mg/片, 产品批号 23150602、23161101、23170601); 甲醇、乙腈为色谱纯(Fishe 公司); 其他试剂为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和质谱条件

2.1.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 20 mmol/L 磷酸氢二铵缓冲液(用氨试液调节 pH 值至 8.5)(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~30 min, 65%~55% A; 30~31 min, 55%~30% A; 31~41 min, 30% A; 41~42 min, 30%~65% A; 42~55 min, 65% A); 检测波长: 280 nm; 柱温: 35 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μL。

2.1.2 二维色谱条件 Capcellpak MGII C₁₈ 色谱柱(50 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水(80:20); 体积流量 0.3 mL/min; 二极管阵列检测器。

2.1.3 质谱条件 离子化模式 ESI⁺; 离子源温度 250 °C; 干燥氮气体积流量 1 L/min; 雾化气压力 31.0 kPa; 鞘气温度 350 °C; 鞘气体积流量 11 L/min, 毛细管电压 3.5 kV; 碰撞电压 50 V; 扫描质量范围 100~800。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的配制 精密称定甲磺酸双氢麦角毒碱对照品适量, 用 0.01 mol/L 酒石酸-乙腈(2:1)制成 0.4 mg/mL 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的配制 取甲磺酸双氢麦角毒碱片样品 30 片, 精密称定, 研细, 精密称取细粉适量(约相当于甲磺酸双氢麦角毒碱 10 mg), 置 25 mL 量瓶中, 加 0.01 mol/L 酒石酸-乙腈(2:1)适量超声使溶解, 再用 0.01 mol/L 酒石酸-乙腈(2:1)稀释至刻度, 摇匀, 离心(10 000 r/min, 10 min), 取上清液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的配制 取处方量空白辅料, 照供试品溶液的配制项下方法操作, 即得。

2.3 双氢麦角毒碱峰位归属

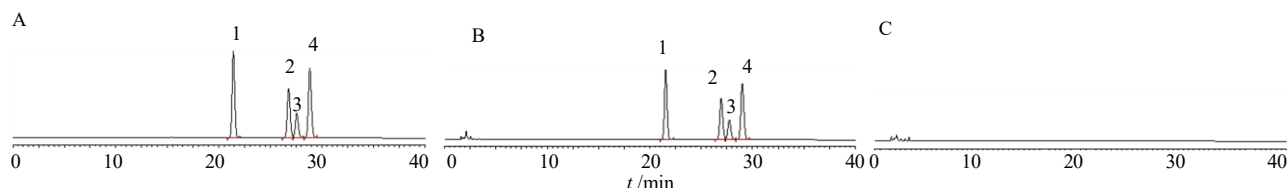
取甲磺酸双氢麦角毒碱对照品溶液, 采用二维色谱-质谱联用技术(2D-LC-MS)对甲磺酸双氢麦角毒碱中 4 个色谱峰进行分析, 进而分别进行化合物归属。甲磺酸双氢麦角毒碱先在一维液相色谱中经过分离, 再经过二维色谱对流动相进行置换, 目标化合物根据保留时间先后依次进入质谱, 获得了分子离子峰的精确相对分子质量。4 种麦角碱的分子离子峰依次为 564.315 8、578.330 4、578.329 8、612.315 8, 因此确认其分别为双氢麦角考宁、双氢麦角隐亭(异构体)、双氢麦角汀。甲磺酸双氢麦角隐亭有甲磺酸双氢-α-麦角隐亭、甲磺酸双氢-β-麦角

隐亭 2 种异构体, 在对照品中的比例约为 2:1, 因此在此质谱中根据分子离子峰的强度即可确认。

2.4 专属性试验

分别精密吸取甲磺酸双氢麦角毒碱片供试品、甲磺酸双氢麦角毒碱对照品和阴性样品溶液各 20

μL, 进样测定, 结果在甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢-α-麦角隐亭、甲磺酸双氢-β-麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀对照品色谱图相应的保留时间处, 供试品溶液色谱图中有吸收峰, 而阴性样品溶液未显示相应色谱峰, 见图 2。



1-甲磺酸双氢麦角考宁, 2-甲磺酸双氢-α-麦角隐亭, 3-甲磺酸双氢-β-麦角隐亭, 4-甲磺酸双氢麦角汀。
1-dihydroergocornine mesylate, 2-dihydro-α-ergocryptine mesylate, 3-dihydro-β-ergocryptine mesylate, 4-dihydroergocristine mesylate.

图 2 甲磺酸双氢麦角毒碱对照品 (A)、甲磺酸双氢麦角毒碱片 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC Chromatogram of dihydroergotoxine mesylate reference substance (A), Dihydroergotoxine Mesylate Tablets (B), and negative sample (C)

2.5 线性关系

精密称取甲磺酸双氢麦角毒碱对照品 50.12 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用稀释液 0.01 mol/L 酒石酸-乙腈 (2:1) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密量取对照品储备液 5、3、2、1 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加稀释液至刻度, 配成系列对照品溶液。取 0.10 mg/mL 对照品溶液 5

mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加稀释液至刻度, 得最低质量浓度对照品溶液。取上述线性系列对照品溶液, 进样测定, 记录峰面积。以 4 种组分各自的峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标分别进行线性回归, 得标准曲线方程, 结果 4 种甲磺酸双氢麦角毒碱的质量浓度在 0.05~1.00 mg/mL 线性关系良好, 见表 1。

表 1 甲磺酸双氢麦角毒碱的标准曲线方程

Table 1 Regression equations of dihydroergotoxine mesylate

成分	回归方程	相关系数	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
甲磺酸双氢麦角考宁	$Y=1.921 \times 10^7 X+1\,453.12$	0.999 9	0.05~1.00
甲磺酸双氢-α-麦角隐亭	$Y=1.249 \times 10^7 X+719.52$	0.999 9	0.05~1.00
甲磺酸双氢-β-麦角隐亭	$Y=6.281 \times 10^6 X+189.38$	0.999 9	0.05~1.00
甲磺酸双氢麦角汀	$Y=1.781 \times 10^7 X+1\,699.84$	0.999 9	0.05~1.00

2.6 重复性试验

取批号 7C884T 甲磺酸双氢麦角毒碱片 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 记录峰面积, 结果甲磺酸双氢麦角毒碱 (总碱)、甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀的质量分数, 以及甲磺酸双氢-α-麦角隐亭与甲磺酸双氢-β-麦角隐亭比例的 RSD 值分别为 0.56%、0.02%、0.02%、0.03%、0.11%。

2.7 稳定性试验

取处方量空白辅料, 精密称取甲磺酸双氢麦角毒碱对照品 16 mg, 加稀释液 0.01 mol/L 酒石酸-

乙腈 (2:1) 至刻度, 分别于室温下放置 0、4、8、12 h, 进样测定, 记录峰面积, 结果甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢-α-麦角隐亭、甲磺酸双氢-β-麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀峰面积的 RSD 值分别为 0.08%、0.09%、0.15%、0.11%, 表明供试品溶液在室温下放置 12 h 基本稳定。

2.8 回收率试验

取处方量空白辅料, 置 50 mL 量瓶中。精密称取甲磺酸双氢麦角毒碱对照品 16、20、24 mg, 加入空白辅料瓶中, 每种质量浓度平行制备 3 份样品, 加稀释液 0.01 mol/L 酒石酸-乙腈 (2:1) 稀释至

刻度, 摇匀, 进样测定, 记录峰面积, 计算回收率, 结果甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢- α -麦角隐亭、甲磺酸双氢- β -麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀的平均回收率分别为 101.2%、101.3%、101.3%、101.2%, RSD 值分别为 1.65%、1.61%、1.66%、1.64% ($n=9$)。

2.9 耐用性试验

取甲磺酸双氢麦角毒碱片供试品溶液, 柱温分别设为 30、35 $^{\circ}\text{C}$, 体积流量做微小调整 ($\pm 0.1\text{ mL/min}$), 其余条件均不变, 进样测定, 结果甲磺酸

双氢麦角考宁、甲磺酸双氢- α -麦角隐亭、甲磺酸双氢- β -麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀主峰峰形和分离度良好, 拖尾因子均在 0.9~1.1, 分离度均大于 1.5, 理论板数均大于 8 000, 满足系统适用性要求。

2.10 样品测定

取甲磺酸双氢麦角毒碱片样品制备供试品溶液, 进样测定, 记录峰面积, 以外标法计算样品中甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢- α -麦角隐亭、甲磺酸双氢- β -麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀的质量分数, 结果见表 2。

表 2 甲磺酸双氢麦角毒碱片中甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢- α -麦角隐亭、甲磺酸双氢- β -麦角隐亭、甲磺酸双氢麦角汀测定结果 ($n=3$)

Table 2 Results of dihydroergococaine mesylate, dihydro- α -ergocryptine mesylate, dihydro- β -ergocryptine mesylate, and dihydroergocristine mesylate in Dihydroergotamine Mesylate Tablets ($n=3$)

批号	质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{片}^{-1}$)			
	甲磺酸双氢麦角考宁	甲磺酸双氢- α -麦角隐亭	甲磺酸双氢- β -麦角隐亭	甲磺酸双氢麦角汀
7J889T	0.331 8	0.222 3	0.119 5	0.326 4
7K894T	0.328 6	0.220 8	0.118 0	0.332 6
7C884T	0.330 4	0.221 8	0.119 2	0.328 6
23150602	0.341 2	0.226 5	0.110 9	0.321 4
23161101	0.327 6	0.210 4	0.118 5	0.343 5
23170601	0.331 8	0.223 7	0.109 7	0.334 7

3 讨论

甲磺酸双氢麦角毒碱为 4 种双氢麦角碱与甲磺酸成盐后的混合物。由于双氢麦角碱碱性较强, 在水溶液中容易接受质子 (H^+) 而离子化, 形成带正电荷的阳离子。这些阳离子与色谱柱的固定相 (如 C_{18} 键合相) 之间的疏水相互作用较弱, 导致其在色谱柱上的保留时间较短, 难以实现 4 种麦角碱的有效分离。卫生部颁标准 WS1-(X-075)-94Z、USP40-NF35 片剂标准均采用高效液相色谱法, 其流动相均为含三乙胺的乙腈-水体系。三乙胺的加入可抑制麦角碱的离子化, 增强其在反相色谱柱上的保留, 从而改善分离效果^[8]。然而, 这种强碱性的流动相体系要求色谱柱必须耐碱, 使得对色谱柱的选择范围变得狭窄。此外, 三乙胺的高浓度可能导致流动相 pH 值升至约 12, 三乙胺进入色谱柱会对色谱柱造成不可逆的损坏。随着进样次数增加, 柱效急剧下降, 4 种麦角碱的色谱峰型变差, 继而造成定量分析不准确。本研究采用 20 mmol/L 磷酸氢二铵缓冲液 (通过氨试液调节 pH 8.5) 作为流动相 A,

乙腈作为流动相 B, 通过梯度洗脱的方式进行分析。与现有方法不同的是, 新方法中流动相不含三乙胺, 这一改变消除了三乙胺对色谱柱不可逆的损害。供试品溶液的质量浓度降低至 0.4 mg/mL, 在满足准确度的前提下, 4 种麦角碱组分的分离效果得到了提升。通过这种方法, 实现了所需组分的有效分离, 且提高了分析准确性和色谱柱耐用性。

在对甲磺酸双氢麦角毒碱这种混合物进行分析时, 由于无法获取 4 种双氢麦角碱单独的标准物质, 传统的一维色谱技术无法有效地归属其中的各个麦角碱组分。本研究采用二维色谱-质谱联用技术 (2D-LC-MS)^[9-10], 通过一维液相色谱的初步分离, 将混合物中的化合物在色谱柱上依次分离, 随后进入二维液相色谱, 以不含不挥发盐的流动相洗脱, 化合物通过第 2 根色谱柱进入质谱进行分析。质谱 (Q-TOF) 提供了每个化合物的分子离子峰, 能够准确归属每个色谱峰到特定的麦角碱。具体来说, 观察到的分子离子峰 m/z 值分别为 564.315 8、578.330 4、578.329 8、612.315 8, 这些值与已知的

甲磺酸双氢麦角考宁、甲磺酸双氢麦角隐亭 (α 、 β 型异构体)、甲磺酸双氢麦角汀的相对分子质量相匹配。值得注意的是,甲磺酸双氢麦角隐亭的 α 型和 β 型异构体具有相同的相对分子质量,因此在质谱上无法直接区分。然而,通过比较这 2 个异构体的分子离子峰强度,并结合它们在混合物中的质量分数,归属了这 2 个异构体的色谱峰,获得了在优化后的色谱条件下和 4 种甲磺酸双氢麦角碱的色谱峰出峰顺序,为该药品的质量控制提供了依据。

本研究建立了一种高效、准确且经济的 HPLC 分析方法,用于测定甲磺酸双氢麦角毒碱片中 4 种麦角类生物碱。通过优化流动相系统、样品处理流程,并结合方法学验证,解决现有技术中分离效果、方法耐用性的矛盾,突出本方法在分离效率、成本控制、操作可行性上的优势,为甲磺酸双氢麦角毒碱片的质量控制提供更可靠的技术支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中华人民共和国国家食品药品监督管理局. 进口药品

注册标准 [S]. JX20050237.2007.

- [2] McArthur R A, Carfagna N, Banfi L, *et al.* Effects of nicergoline on age-related decrements in radial maze performance and acetylcholine levels [J]. *Brain Res Bull*, 1997, 43(3): 305-311.
- [3] 中华人民共和国卫生部部颁标准 WS1-(X-075)-94Z: 甲磺酸二氢麦角碱片质量标准 [S]. 1994.
- [4] US Pharmacopeia (USP) [S]. <https://www.usp.org>.
- [5] 牟微, 常明, 于宏伟, 等. 甲磺酸双氢麦角毒碱片含量测定的方法学研究 [J]. 河北化工, 2011, 34(7): 22-24.
- [6] 国家食品药品监督管理局标准 YBH02482009 [S]. 2010.
- [7] 赵荣军, 常雪君. 甲磺酸二氢麦角碱缓释片含量测定方法的优化 [J]. 山西医药杂志, 2015, 44(3): 336-338.
- [8] 苏坦. 三乙胺对色谱柱的影响及解决方案 [J]. 中国中医药资讯, 2010, 2(7): 109.
- [9] Abbosova Z D, 王李杰, 陆宇婷, 等. 喷昔洛韦乳膏有关物质的二维色谱-质谱联用鉴定 [J]. 药物分析杂志, 2024, 44(1): 89-100.
- [10] 金瑞, 闫若凝, 陆宇婷, 等. 色谱-质谱联用技术鉴定盐酸咪达唑仑的有关物质 [J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(3): 313-326.

【责任编辑 解学星】