·国家药监局重点实验室·麻精药品质量研究专题·

中图分类号：R917；R971⁺.1　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2023)23－0007－06
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2023.23.002

复方氨酚烷胺片(胶囊)中主成分含量均匀度测定*

梁　静，李　超，黄　俊，罗立骏，徐　登，冯　琴，程辉跃△

(重庆市食品药品检验检测研究院·国家药品监督管理局麻醉精神药品质量监测重点实验室，重庆　401121)



专家简介：梁静，女，硕士研究生，副主任药师，研究方向为药物分析及检验。主研并参与国家级、省级科研课题多项。完成国家药品标准提高任务 5 项，并已被增订入《中国药典》。获国家发明专利 5 项，发表 SCI 论文 2 篇，EI 论文 1 篇。

摘要：**目的**　建立测定复方氨酚烷胺片(胶囊)中咖啡因和马来酸氯苯那敏含量均匀度的高效液相色谱(HPLC)法，并探讨其对重量/装量差异的影响。**方法**　色谱柱为 YMC－C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相为 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 3.0)－甲醇(60∶40，*V*/*V*)，流速为 1.0 mL/min，检测波长为 275 nm(对乙酰氨基酚)和 225 nm(咖啡因、马来酸氯苯那敏)，柱温为 35 ℃，进样量为 5 μL(对乙酰氨基酚)和 20 μL(咖啡因、马来酸氯苯那敏)。考察 *S* 值较大 3 家生产企业产品的重量/装量差异和主成分含量均匀度的关系。**结果**　44 家复方氨酚烷胺片生产企业的 106 批样品中，主成分含量均匀度的合格率为 91.84%(90/98)；52 家复方氨酚烷胶囊生产企业的 135 批样品中，胶囊剂主成分含量均匀度的合格率为 94.87%(111/117)。片剂生产企业 C、胶囊生产企业 E 的产品每片(粒)中 3 种主成分含量与片重(粒重)曲线高度一致，但重量/装量差异的 *RSD* 分别为 3.31% 和 2.25%；胶囊企业 K 的产品装量差异的 *RSD* 为 1.35%，但仅对乙酰氨基酚的含量同装量差异呈正相关。**结论**　建立的主成分含量均匀度测定方法专属性强，可为复方氨酚烷胺片(胶囊)的质量控制提供参考。建议生产企业根据主成分的投料量，按从大到小的顺序进行逐级混合，以提高产品的混合均匀度；同时，应在质量标准中增加咖啡因和马来酸氯苯那敏 2 种主成分的含量及含量均匀度的控制项目。

关键词：复方氨酚烷胺片(胶囊)；对乙酰氨基酚；咖啡因；马来酸氯苯那敏；含量均匀度；生产工艺；逐级混合

Determination of Content Uniformity of Main Components in Compound Paracetamol and Amantadine Hydrochloride Tablets (Capsules)

LIANG Jing, LI Chao, HUANG Jun, LUO Lijun, XU Deng, FENG Qin, CHENG Huiyue

(Chongqing Institute for Food and Drug Control · NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring of Narcotic Drugs and Psychotropic Substances, Chongqing, China　401121)

Abstract: **Objective**　To establish a high－performance liquid chromatography (HPLC) method for determining the content uniformity of caffeine and chlorpheniramine maleate in Compound Paracetamol and Amantadine Tablets (Capsules), and to

*基金项目：重庆市技术创新与应用发展专项资助项目[cstc2020jscx－msxmX0237]。

第一作者：梁静，女，硕士，副主任药师，研究方向为药物分析和药品质量，(电子信箱)liangjing@cqifdc.org.cn。

△通信作者：程辉跃，男，土家族，大学本科，主任药师，研究方向为药品质量控制，(电子信箱)chenghuiyue@cqifdc.org.cn。

ceptibility to express amphetamine locomotor sensitization correlates with dorsolateral striatum bursting activity and GABAergic synapses in the globus pallidus[J]. Brain Res Bull, 2022, 179: 83－96.

[36] LI HC, ZHANG JM, XU R, et al. mTOR regulates cocaine－induced behavioural sensitization through the SynDIG1－GluA2 interaction in the nucleus accumbens[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022, 43(2): 295－306.

[37] TRAN TDB, MONROY HERNANDEZC, NGUYEN H, et al. The microbial community dynamics of cocaine sensitization in two behaviorally divergent strains of collaborative cross mice[J]. Genes Brain Behav, 2023, 22(3): e12845.

[38] FARHAN M, PARVEEN M. Depletion of apomorphine induced behavioral sensitization in rats treated with escitalopram[J]. Pak J Pharm Sci, 2019, 32(1): 197－203.

[39] CHEN G, LI T, XIAO J, et al. Ifenprodil Attenuates Methamphetamine－Induced Behavioral Sensitization Through the GluN2B－PP2A－AKT Cascade in the Dorsal Striatum of Mice[J]. Neurochem Res, 2020, 45(4): 891－901.

[40] ALAM N, CHAUDHARY K. Repeated restraint stress potentiates methylphenidate and modafinil－induced behavioral sensitization in rats[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2020, 393(5): 785－795.

(收稿日期：2023－10－11；修回日期：2023－11－02)

investigate its effect on the weight difference. **Methods** The chromatographic column was YMC-C_{18} column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.1 mol / L phosphate buffer (pH 3.0) - methanol (60∶40, *V* / *V*), the flow rate was 1.0 mL / min, the detection wavelengths were 275 nm (acetaminophen) and 225 nm (caffeine, chlorphenamine maleate), the column temperature was 35 ℃, and injection volumes were 5 μL (acetaminophen) and 20 μL (caffeine, chlorpheniramine maleate). The relationship between the weight difference and the content uniformity of main components of products from three manufacturers with higher *S* - value was investigated. **Results** Among the 106 batches of samples from 44 manufacturers of Compound Paracetamol and Amantadine Tablets, the qualification rate for the content uniformity of the main components was 91.84% (90 / 98). Among the 135 batches of samples from 52 manufacturers of Compound Paracetamol and Aminophene Capsules, the qualification rate for the content uniformity of the main components was 94.87% (111 / 117). The contents of three main components in each tablet of tablet manufacturer C and each granule of capsule manufacturer E were highly consistent with the curve of tablet weight (granule weight), but *RSD*s of weight difference were 3.31% and 2.25%, respectively. The *RSD*s of the weight difference for capsule manufacturer K was 1.35%, but only the content of acetaminophen was positively correlated with the weight difference. **Conclusion** The established method for determining the content uniformity of main components has strong specificity and can provide a reference for the quality control of Compound Paracetamol and Amantadine Tablets (Capsules). It is recommended that the manufacturers mix the main ingredients in a step - by - step order from large to small according to their inventory, in order to improve the mixing uniformity of the product. Meanwhile, control items for the content and content uniformity of caffeine and chlorpheniramine maleate should be added to the quality standards.

Key words: Compound Paracetamol and Amantadine Hydrochloride Tablets (Capsules); acetaminophenol; caffeine; chlorphenamine maleate; content uniformity; production process; mixing step - by - step

复方氨酚烷胺片(胶囊)属解热镇痛类非处方[1-6],规格均为每片(粒)含对乙酰氨基酚250 mg、金刚烷胺100 mg、咖啡因15 mg、马来酸氯苯那敏2 mg、人工牛黄10 mg。复方氨酚烷胺片(胶囊)历史久远,企业留存的研发及申报资料都较少,且不完整,制剂研发、标准建立的相关资料已无从溯源。复方氨酚烷胺片的现行质量标准为《国家药品标准·化学药品地方标准上升国家标准(第十六册)》(WS_1-XG-015-2002)[7],复方氨酚烷胺胶囊的现行质量标准为《卫生部药品标准·化学药品(第五册)》(WS-HY<05>-01)[8],但自注册以来从未进行过改进和变更,多个关键质控项目缺失,已无法对该药品的质量进行有效控制。根据2020年版《中国药典(四部)》通则0941[9]规定,"每一个单剂标示量小于25 mg或主药量小于每一个单剂重量25%者",应检查含量均匀度。复方氨酚烷胺片(胶囊)的咖啡因和马来酸氯苯那敏的标示含量分别为15 mg和2 mg,故需建立含量均匀度的测定方法。本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法对咖啡因和马来酸氯苯那敏进行含量均匀度检查,以更好地控制和评价各企业产品的混合均匀度及主成分含量均匀度。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司),配有紫外检测器;Waters 2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司),配有光电二极管列阵检测器(PDA);XSE204型电子天平(精度为0.1 mg),Quintix 224-1CN型电子天平(精度为0.01 mg),均购自瑞士Mettler Toledo公司;SB25-12DT型新芝超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司,功率为600 W,频率为50 kHz)。

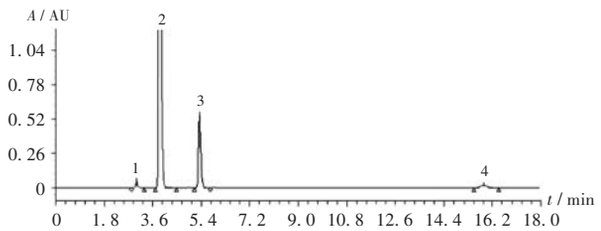
1.2 试药

复方氨酚烷胺片源于44家生产企业,共106批样品,其中1批(批号为X201002)用于方法学考察;复方氨酚烷胺胶囊源于52家生产企业,共135批样品,其中1批(批号为20210622)用于方法学考察;对乙酰氨基酚对照品(批号为100018-202312,含量为100%),咖啡因对照品(批号为171215-202013,含量为99.7%),马来酸氯苯那敏对照品(批号为100047-202008,含量为99.7%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,水为二次纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件[10-14]与系统适用性试验

色谱柱:YMC-C_{18}柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1 mol / L磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢铵11.5 g,加1 000 mL水使溶解,用磷酸调pH至3.0 ± 0.05)-甲醇(60∶40, *V* / *V*);流速:1.0 mL / min;检测波长:275 nm(对乙酰氨基酚),225 nm(咖啡因、马来酸氯苯那敏);柱温:35 ℃;进样量:5 μL(对乙酰氨基酚),20 μL(咖啡因、马来酸氯苯那敏)。在此色谱条件下,各组分色谱峰的分离度均符合要求,理论板数按氯苯那敏峰计不低于5 000,对照品溶液各主峰峰面积的*RSD*均不超过1%。色谱图见图1。



1. 马来酸 2. 对乙酰氨基酚 3. 咖啡因 4. 氯苯那敏

图1 高效液相色谱图

1. Maleic acid 2. Acetaminophen 3. Caffeine 4. Chlorphenamine

Fig. 1 HPLC chromatogram

2.2 溶液制备

供试品溶液：取样品1片（粒），置200 mL容量瓶中，加甲醇－水溶液（40∶60，*V* / *V*）适量，超声（功率为600 W，频率为50 kHz）使溶解，再用甲醇－水溶液（40∶60，*V* / *V*）稀释并定容，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

对照品溶液：取对乙酰氨基酚对照品适量，精密称定，置100 mL容量瓶中，加甲醇－水溶液（40∶60，*V* / *V*）溶解并稀释成每1 mL约含对乙酰氨基酚0.125 mg的对乙酰氨基酚对照品溶液；取马来酸氯苯那敏对照品适量，精密称定，置50 mL容量瓶中，加甲醇－水溶液（40∶60，*V* / *V*）适量，超声使溶解并定容，摇匀，作为马来酸氯苯那敏对照品贮备液；取咖啡因对照品适量，精密称定，置250 mL容量瓶中，加甲醇－水溶液（40∶60，*V* / *V*）适量，超声使溶解，再精密加入马来酸氯苯那敏对照品贮备液10 mL，用甲醇－水溶液（40∶60，*V* / *V*）稀释成每1 mL约含咖啡因75 μg、马来酸氯苯那敏10 μg的咖啡因和马来酸氯苯那敏对照品溶液；取对乙酰氨基酚、咖啡因与马来酸氯苯那敏对照品各适量，精密称定，置100 mL容量瓶中，加甲醇－水溶液（40∶60，*V* / *V*）溶解并稀释成每1 mL约含对乙酰氨基酚1.25 mg、咖啡因75 μg、马来酸氯苯那敏10 μg的混合对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察：分别吸取对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏对照品溶液5，10，15，20，25，30 μL，分别注入液相色谱仪，记录色谱图，以进样量（*X*，μg）为横坐标、峰面积（*Y*）为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

重复性试验：取同一批（片剂企业A，批号为X201002；胶囊剂企业M，批号为20210622）样品6份，精密称定，按2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算含量。结果见表1，表明方法重复性良好。

稳定性试验：取同一批（片剂企业A，批号为X201002；胶囊剂企业M，批号为20210622）样品适量，按2.2项下方法制备供试品溶液，分别于常温下放置0，2，4，8，16，24 h时按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果见表1，表明供试品溶液在常温下24 h内稳定性良好。

加样回收试验：取样品（片剂企业A，批号为X201002；胶囊剂企业M，批号为20210622）适量，平行9份，分别精密加入咖啡因和马来酸氯苯那敏对照品溶液8，10，12 mL，各3份，按2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，并计算回收率。结果见表1。

2.4 样品含量均匀度测定

片剂：根据2020年版《中国药典（四部）》通则0941[9]规定，若$A + 2.2S \leqslant 15.0$，则供试品的含量均匀度符合规定；若$A + S > 15.0$，则供试品的含量均匀度不符合规定；若$A + 2.2S > 15.0$且$A + S \leqslant 15.0$，则另取20片（粒）复试。随机抽取每个生产企业的1～6批样品进行含量均匀度考察，共106批，含量均匀度测定色谱图见图2。其中，需复试的样品8批，包括咖啡因含量均匀度需复试1批，马来酸氯苯那敏含量均匀度需复试6批，2个主成分均需复试1批，涉及7家生产企业；不合格样品8批（即$A + S > 15.0$），其中咖啡因和马来酸氯苯那敏含量均匀度不合格各4批，涉及4家生产企业。需复试的样品批数不计入合格率计算，故片剂含量均匀度的合格率为91.84%（90 / 98）。详见表2。

胶囊剂：随机抽取每个生产企业的1～6批样品进行含量均匀度考察，共考察135批，含量均匀度测定色谱图见图2。需复试的样品18批，其中咖啡因含量均匀度需复试16批，马来酸氯苯那敏含量均匀度需复试1批，2个主成分均需复试1批，涉及13家生产企业；不合格样品6批（即$A + S > 15.0$），其中咖啡因和马来酸氯苯那敏含量均匀度不合格各3批，涉及6家生产企业。需复试的样品批数不计入合格率计算，故胶囊剂含量均匀度的合格率为94.87%（111 / 117）。

表1 方法学考察结果

Tab. 1 Results of the methodological investigation

成分	回归方程	线性范围（μg）	*r*	片剂重复性试验（%）		片剂回收试验（%）		胶囊剂重复性试验（%）		胶囊剂回收试验（%）		稳定性试验的*RSD*（%）	
				$\bar{X}$	*RSD*	$\bar{X}$	*RSD*	$\bar{X}$	*RSD*	$\bar{X}$	*RSD*	片剂	胶囊剂
对乙酰氨基酚	$Y = 459\,845X - 669\,937$	1.27～76.14	0.999 8	102.9	0.69	101.8	0.63	102.9	0.69	101.8	0.63	0.25	0.11
咖啡因	$Y = 36\,581X - 88\,733$	0.098～3.54	1.000 0	111.4	0.73	100.4	0.64	111.4	0.73	100.4	0.64	0.32	0.26
马来酸氯苯那敏	$Y = 32\,401X - 13\,480$	0.011～0.395 4	0.999 9	102.1	1.49	101.8	0.55	102.1	1.49	101.8	0.55	0.30	0.17

2.5 重量/装量差异与含量均匀度的关系

根据2.4项下测定结果，对*S*值较大的片剂生产企业C、胶囊剂生产企业E和胶囊剂生产企业K产品的重量/装量差异与含量均匀度的关系进行考察，详见图3。片剂生产企业C、胶囊生产企业E的产品每片（粒）中3种主成分含量与片（粒）重曲线高度一致，表明主成分在制粒时混合均匀，但由于片剂生产企业C的产品重量的*RSD*为3.31%，胶囊生产企业E的产品装量的*RSD*为2.25%，导致含量均匀度不合格；胶囊生产企业K的产品装量的*RSD*为1.35%，但仅有对乙酰氨基酚的含量与装量差异呈正相关。

3 讨论

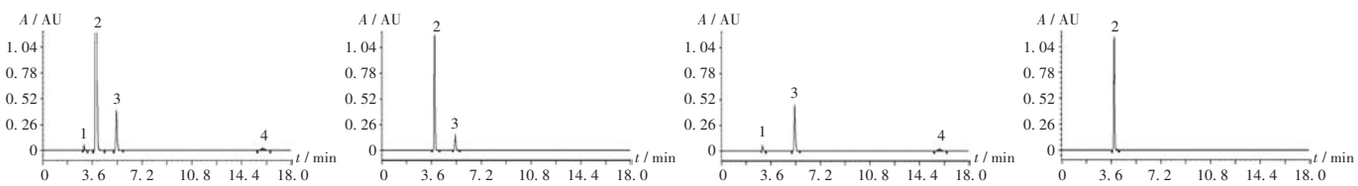
3.1 含量测定方法建立

采用高效液相色谱-紫外检测法对对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏3个主成分进行分离和含量测定，其难点在于对乙酰氨基酚每片（粒）含量250 mg，而马来酸氯苯那敏每片（粒）含量仅2 mg，上述2个主成分含量差异达125倍。因此，考虑在同一液相色谱系统中，采用不同的进样量，以保证2种主成分定量的准确性。根据PDA图谱扫描结果，咖啡因的最大吸收波长为275 nm，马来酸氯苯那敏的最大吸收波长为228 nm，由于马来酸氯苯那敏的含量低，氯苯那敏的峰面积较小。因此，确定咖啡因和马来酸氯苯那敏的检测波长为225 nm。

此外，在现行法定标准中，流动相采用等度洗脱方式，导致氯苯那敏的保留时间较长，往往超过50 min才出峰，且氯苯那敏的含量极低，导致氯苯那敏峰形不够尖锐，理论板数较差，影响定量的准确性。采用加大有机相的比例，氯苯那敏峰的出峰时间稳定在16 min左右，提高了氯苯那敏峰的理论板数和定量的准确性。故选择2.1项下流动相等度洗脱程序。

3.2 含量均匀度测定结果评价

复方氨酚烷胺片：片剂含量均匀度合格率为91.84%，



1. 马来酸（225 nm） 2. 对乙酰氨基酚（275 nm） 3. 咖啡因（225 nm） 4. 氯苯那敏（225 nm）

A - B. 供试品溶液 C - D. 对照品溶液

图2 含量均匀度测定高效液相色谱图

1. Maleic acid（225 nm） 2. Acetaminophen（275 nm） 3. Caffeine（225 nm） 4. Chlorphenamine（225 nm）

A - B. Test solution C - D. Reference solution

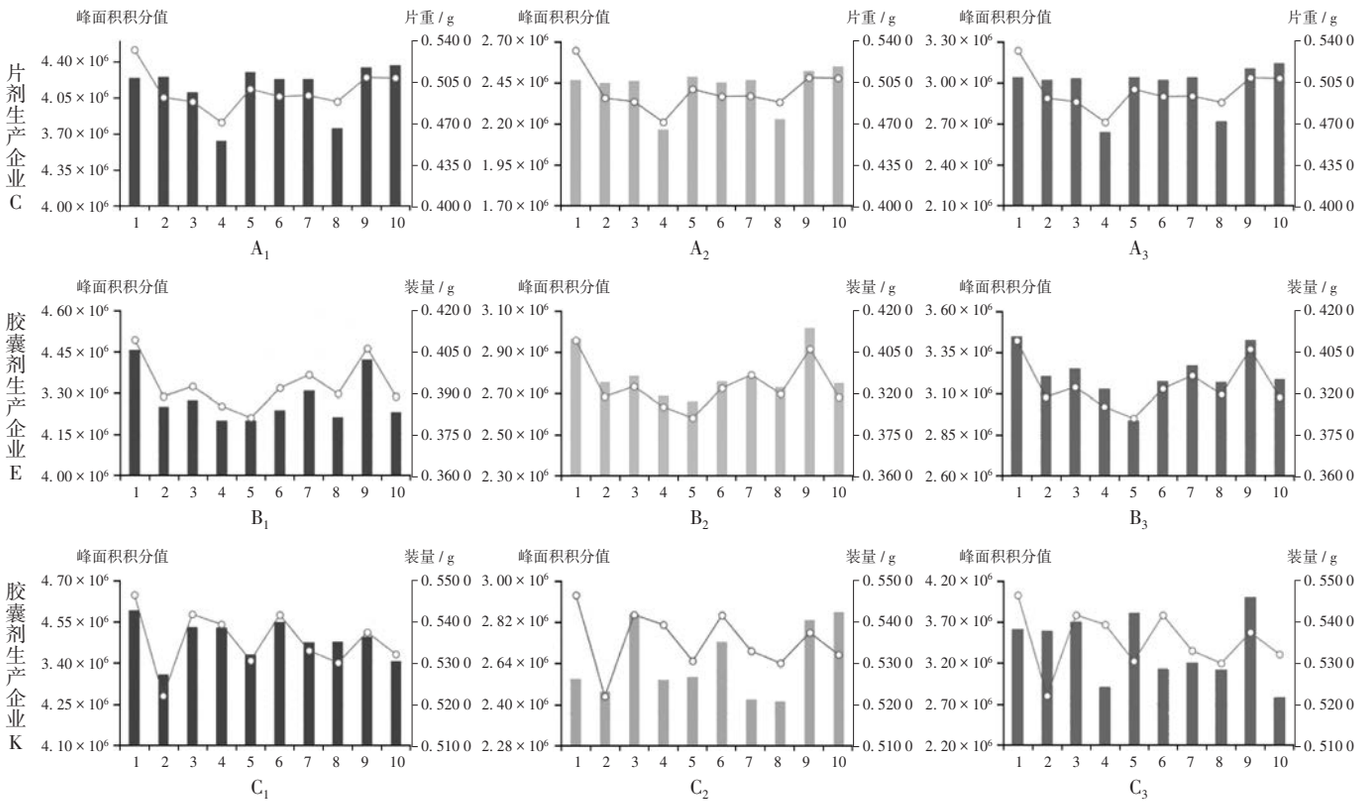
Fig. 2 HPLC chromatograms of the content uniformity

表2 复方氨酚烷胺片（胶囊）需复试批数和不合格批数

Tab. 2 Number of batches of Compound Paracetamol and Amantadine Hydrochloride Tablets (Capsules) need to be retested and unqualified

项目		咖啡因			马来酸氯苯那敏		
		企业	$A+S$	$A+2.2S$	企业	$A+S$	$A+2.2S$
片剂	复试	企业B	9.7	16.7	企业B	14.1	17.2
		企业D	14.2	18.5	企业B	14.8	23.4
					企业K	10.2	15.8
					企业J	13.5	16.3
					企业I	13.1	15.9
					企业H	13.2	16.0
					企业F	9.7	19.6
	不合格	企业A	17.5		企业C	18.2	
		企业A	17.3		企业G	18.1	
		企业A	15.2		企业G	24.8	
		企业E	16.5		企业G	18.5	
胶囊剂	复试	企业A	11.9	15.8	企业P	14.7	19.0
		企业B	14.8	17.6	企业K	14.7	32.3
		企业B	13.4	15.7			
		企业C	11.8	17.3			

项目		咖啡因			马来酸氯苯那敏		
		企业	$A+S$	$A+2.2S$	企业	$A+S$	$A+2.2S$
胶囊剂	复试	企业D	10.9	15.3			
		企业E	12.4	15.4			
		企业F	12.5	15.2			
		企业F	13.5	16.0			
		企业F	12.9	16.0			
		企业G	14.1	15.1			
		企业G	13.0	15.1			
		企业H	14.3	17.4			
		企业I	13.9	15.3			
		企业J	10.8	22.1			
		企业K	10.9	15.8			
		企业L	13.9	16.6			
	不合格	企业B	17.5		企业N	15.3	
		企业D	15.8		企业O	46.2	
		企业F	24.7		企业Q	23.9	



A_1, B_1, C_1. 对乙酰氨基酚　A_2, B_2, C_2. 咖啡因　A_3, B_3, C_3. 马来酸氯苯那敏

图3　重量 / 装量差异与含量均匀度的关系

A_1, B_1, C_1. Acetaminophen　A_2, B_2, C_2. Caffeine　A_3, B_3, C_3. Chlorphenamine Maleate

Fig. 3　Relationship between weight difference and content uniformity

106批中有8批产品需复试，有8批产品不合格。咖啡因含量均匀度不合格的有4批，来自片剂生产企业A的3批和片剂生产企业E的1批，其咖啡因的*S*值不大，但*A*值太大，导致$A + S > 15.0$。片剂生产企业C产品的含量均匀度较差，马来酸氯苯那敏含量均匀度不合格。分析原因，生产企业C产品的*A*值和*S*值均较大，且*A*值与含量测定结果差异较大。片剂生产企业G产品中马来酸氯苯那敏的含量均匀度极差，6批产品中马来酸氯苯那敏含量均匀度有3批不符合规定；1批*S*值为5.80%，其余5批*S*值最大为1.66%。表明该生产企业混合制粒的工艺没有问题，结合其产品的含量测定结果，认为生产企业G对马来酸氯苯那敏的投料量未严格按处方和标准作业程序进行投料，导致批间差异较大。

复方氨酚烷胺胶囊：胶囊剂含量均匀度合格率为94.87%，135批中有18批产品需复试，有6批产品不合格。咖啡因含量均匀度不合格的有3批，来自胶囊生产企业D，B，F，企业D和B是由于咖啡因含量均匀度*A*值过大而导致不合格；而胶囊生产企业F产品的含量均匀度较差，1批产品咖啡因含量均匀度不合格，马来酸氯苯那敏含量均匀度需复试，含量均匀度*A*值和*S*值均较大，导致产品的含量均匀较差。胶囊生产企业K产品的含量均匀度极差，1批产品的咖啡因和马来酸氯苯那敏含量均匀度均需复试，2种主成分的*A*值仅为1.41%和0.06%，表明主药投料量合格；但*S*值过大，分别为9.41%和14.14%。表明混合制粒时未混匀，导致产品的含量均匀度极差。胶囊生产企业O产品的马来酸氯苯那敏含量高达142%，这与含量测定结果一致，其规格为同品种其他产品标识量的1 / 2，对乙酰氨基酚、盐酸金刚烷胺和咖啡因含量均符合规定，马来酸氯苯那敏的含量却远高于规定限度，表明未严格按处方量投料生产。胶囊剂中咖啡因含量均匀度需复试的批数较多，涉及12家企业的16批产品，除了胶囊生产企业K的1批产品外，其余均为咖啡因含量过高导致含量均匀度超出规定限度，表明胶囊剂中咖啡因过量投料的现象较片剂普遍。

3.3　含量均匀度不符合规定的原因分析

考察*S*值较大的片剂生产企业C、胶囊生产企业E和胶囊生产企业K产品的重量 / 装量差异和含量均匀度的关系，结果显示，由于对乙酰氨基酚每片标示量为250 mg，占每片（粒）制剂总质量的50%～70%，每片（粒）制剂中对乙酰氨基酚的含量与每片（粒）质量直接相关，故控制好重量 / 装量差异的均匀性，可保证对乙酰氨基酚每片（粒）含量的均匀性。片剂生产企业C和胶