

# 非水电位滴定法测定比沙可啶纯度及不确定度评定

郭永辉\*, 闫凯, 姜建国, 韩学静(河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

中图分类号 R917;R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)37-3510-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.37.18

**摘要** 目的:建立非水电位滴定法测定比沙可啶纯度的不确定度评定方法。方法:对采用非水电位滴定法测定比沙可啶纯度过程中引入的高氯酸滴定液浓度、方法重复性、仪器、比沙可啶摩尔质量、称量、滴定液消耗体积6个分量不确定度进行了系统分析。结果:置信概率为95%时,采用非水电位滴定法测定比沙可啶纯度结果的标准值及其不确定度为 $99.82\% \pm 0.53\%$ 。其中滴定液消耗体积、滴定液浓度和仪器不确定度3个分量对评定总不确定度贡献较大。结论:建立的非水电位滴定法不确定度评定结果可靠,其结果有利于提高比沙可啶的质量评价与控制水平,同时为比沙可啶纯度标准物质的研制提供了科学依据。

**关键词** 比沙可啶;纯度;不确定度评定;非水电位滴定法

## Purity Determination and Uncertainty Evaluation of Bisacodyl by Non-aqueous Electrolytic Titration

GUO Yong-hui, YAN Kai, JIANG Jian-guo, HAN Xue-jing(Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the non-aqueous titration method of uncertainty evaluation in purity determination of bisacodyl. METHODS: Non-aqueous titration was selected for studying on valuation in purity determination of bisacodyl, and the uncertainty of perchloric acid titration concentration, method repeatability, automatic potentiometric titration systematic deviation, bisacodyl molar mass, weighing and consumed titration volume in the determination was evaluated systematically. RESULTS: When confidence probability was equal to 95%, the standard value and uncertainty of bisacodyl purity was  $99.82\% \pm 0.53\%$ . Those had significant impacts on uncertainty, which were consumed titration volume and concentration and automatic potentiometric titrator systematic deviation. CONCLUSIONS: Established non-aqueous titration method of uncertainty evaluation is reliable and helpful to improve the quality evaluation and control of bisacodyl, and provide scientific basis for the development of bisacodyl purity reference materials.

**KEYWORDS** Bisacodyl; Purity; Uncertainty; Non-aqueous titration

比沙可啶原料药为2010年版《中国药典》(二部)收载的品种,是目前临床上广泛使用的通便剂。该药通过与肠黏膜直接接触,刺激感觉神经末梢,使肠蠕动增加,促进肠道排空。非水电位滴定法测定纯度已有文献报道<sup>[1-3]</sup>,本文参考2010年版《中国药典》及有关文献<sup>[4-9]</sup>,采用非水电位滴定法对比沙可啶原料药的纯度进行了测定,依次按照建立数学模型、分析不确定度来源、计算不确定度分量、合成标准不确定度和扩展不确定度的过程,对非水电位滴定法测定比沙可啶原料药纯度的过程进行不确定度评定。本研究有利于提高药品的质控水平,同时可为比沙可啶纯度标准物质的研制提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

DL-50自动电位滴定仪、XS105电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

### 1.2 药品与试剂

邻苯二甲酸氢钾基准试剂(KHP)为优级纯[批号:AS1908;纯度:( $99.988 \pm 0.008$ )%];高氯酸、无水冰醋酸、醋酸酐均为分析纯;结晶紫为试剂纯(天津光复科技发展有限公司);卡尔费休试液(天津科密欧试剂公司);无水甲醇(德国Merck公司);水为自制纯化水;比沙可啶原料药(河北康泰药

[2] 李岚,熊安凤.多聚甲醛和亚砷酸失活剂治疗老年牙髓炎疗效比较[J].南华大学学报:医学版,2008,36(3):402.

[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:162.

[4] Carlo A, Benassi AS. High-performance liquid chromatographic determination of free formaldehyde in cosmetics [J]. *Journal of Chromatography*, 1989(464):387.

[5] 马海霞,李来好,杨贤庆,等.分光光度法测定水产品中甲醛含量的研究[J].南方水产,2008,4(6):26.

[6] 胡亚奇,高丽红,毛斐.品红亚硫酸法测定居室空气中的

甲醛[J].中国卫生检验杂志,2010,20(4):765.

[7] 王成云,钟声扬,李泳涛,等.一次性纸杯浸泡液中痕量甲醛的柱前衍生/超高效液相色谱法测定[J].广东化工,2011,38(2):161.

[8] 张小军,王岳庆,郑斌,等.高效液相色谱法测定蟹组织中甲醛的含量[J].浙江海洋学院学报:自然科学版,2009,28(1):32.

[9] 姜李雁,李妍妍,邵亮亮,等.水产品及水发食品中的甲醛检测技术研究[J].食品工业科技,2010,31(8):351.

[10] 鲁燕骅,杨丽仙,牛华,等.高效液相色谱法测定食用菌中甲醛的方法研究[J].食品研究与开发,2013,34(2):65.

(收稿日期:2013-12-04 修回日期:2014-01-07)

\*主管药师,博士。研究方向:药品质量控制、标准物质研制、药物晶型。电话:0311-85212004-8085。E-mail:guo19830723@163.com

业有限公司,批号:130501,规格:每瓶10 g,HPLC色谱法测纯度:99.9%)。

### 1.3 高氯酸滴定液的制备

取无水冰醋酸(按含水量计算,1 g水加醋酸酐5.22 ml)750 ml,加入体积分数70%的高氯酸8.5 ml,摇匀,在室温下缓缓滴加醋酸酐23 ml,边加边摇,加完后再振摇均匀,放冷,加无水冰醋酸适量,使成1 000 ml,摇匀,放置24 h,即得。

### 1.4 高氯酸滴定液的标定

精密称定105 °C干燥至恒重的邻苯二甲酸氢钾0.16 g,加无水冰醋酸20 ml使溶解,加结晶紫指示剂1滴,摇匀,用高氯酸滴定液滴定至溶液由蓝紫色变为黄绿色,并将试验结果用空白试验校正。高氯酸滴定液校正后使用体积为7.75 ml,经标定,该高氯酸滴定液的浓度为0.101 3 mol/L(即101.3 mmol/L)。

### 1.5 比沙可啶的含量测定

取比沙可啶原料药约0.30 g,精密称定,加无水冰醋酸25 ml溶解,加萘酚苯甲醇指示液2滴,照《中国药典》非水溶液滴定法<sup>[4]</sup>,在磁力搅拌下用高氯酸滴定液滴定,记录消耗滴定液的体积,并将滴定结果用空白试验校正,计算结果。本研究选择电位法指示终点,并采用萘酚苯甲醇为指示剂进行滴定终点的辅助判断,溶液显黄绿色即为滴定终点。

## 2 含量标准值的确定

### 2.1 数学模型

以比沙可啶含量计算公式作为不确定度评定的数学模型。比沙可啶含量计算公式: $A=c \times (V-V_0) \times M/m \times 100\%$ 。

式中: $A$ 为以无水物计算所得比沙可啶的质量分数(%); $c$ 为高氯酸滴定液的浓度(mol/L); $V$ 为供试品消耗滴定液的体积(ml); $V_0$ 为空白试验消耗滴定液的体积(ml); $M$ 为无水比沙可啶的摩尔质量(g/mol); $m$ 为供试品称样量(g)。

由上式可知,比沙可啶含量测定的不确定度来源于高氯酸滴定液浓度、比沙可啶消耗滴定液的体积、自动电位滴定仪、比沙可啶摩尔质量、质量称量及方法重复性。

### 2.2 含量测定

#### 2.2.1 测定方法。

按照“1.5”项下比沙可啶的含量测定方法,双人(甲、乙)独立操作测量10次,计算含量(数据结果略)。

#### 2.2.2 测量数据的检验。

(1)格拉布斯(Grubbs)检验。分别对双人(甲、乙)独立操作检测数据进行格拉布斯检验,进行可疑值的剔除。将各自10组测量纯度数据按从小到大的顺序排列,计算平均值 $\bar{x}$ 和标准偏差 $s$ 。偏离值计算:平均值与最小值之差为 $a_1$ ;最大值与平均值之差为 $a_2$ 。 $a_1$ 、 $a_2$ 最大的值确定为可疑值 $a$ 。

计算格拉布斯 $G$ 值: $G=a/s$ 。

结果, $G_{甲}=1.929$ , $G_{乙}=1.478$ ,查格拉布斯临界值表知: $G_{0.95}(10)=2.176$ 。因 $G_{甲}$ 及 $G_{乙}$ 均小于 $G_{0.95}(10)$ ,故在2组数据中无可疑值存在。

(2) $t$ 检验。对2个独立检测数据进行 $t$ 检验。甲:平均值 $\bar{x}=99.799\%$ ,标准偏差 $s_1=0.000 524$ ,测定数量 $n_1=10$ 。乙:平均值 $\bar{x}=99.833\%$ ,标准偏差 $s_2=0.000 440$ ,测定数量 $n_2=10$ 。当两样本的标准偏差 $s_1$ 和 $s_2$ 已知时,合并方差 $s_c$ 为: $s_c^2 = \frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{(n_1-1) + (n_2-1)} = [(10-1) \times 0.000 524^2 + (10-1) \times$

$0.000 440^2] / [(10-1) + (10-1)] = 2.34 \times 10^{-7}$ ,合并偏差为 $s =$

$$\sqrt{s_c^2 \left( \frac{n_1+n_2}{n_1 \times n_2} \right)} = 2.16 \times 10^{-4}, t \text{ 检验结果为 } t = |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| / s = 1.574。$$

查 $t$ 分布双侧分位数表知, $t_{18}^{0.05} = 2.101$ 。因两次独立检测数据的 $t$ 值小于临界值,表明两次独立检测数据无显著性差异。

### 2.3 标准值

由比沙可啶的含量测量数据,确定比沙可啶含量的标准值为99.816%,20组测量数据标准偏差为 $s = 5.016 \times 10^{-4}$ 。

## 3 各分量的不确定度评定

### 3.1 高氯酸滴定液浓度的不确定度( $u_{HClO_4}$ )

#### 3.1.1 邻苯二甲酸氢钾纯度的不确定度( $u_{KHP}$ )。

基准试剂邻苯二甲酸氢钾的含量为 $(99.988 \pm 0.008)\%$ ,标准正态分布时区间为 $(-1.96, 1.96)$ ,按正态分布换算成标准不确定度为 $8 \times 10^{-5} / 1.96 = 4.082 \times 10^{-5}$ 。相对标准不确定度为 $4.082 \times 10^{-5} / 0.999 88 = 4.082 \times 10^{-5}$ 。

#### 3.1.2 邻苯二甲酸氢钾称量的不确定度( $u_{m_1}$ )。

天平检定证书给出在置信概率为95%时天平称量的不确定度为 $\pm 0.02$  mg,按矩形分布 $k = \sqrt{3}$ ,计算标准不确定度 $u_{m_1} = 0.02 / \sqrt{3} = 1.155 \times 10^{-2}$ 。高氯酸滴定液标定时精密称定恒重的邻苯二甲酸氢钾160 mg,则相对标准不确定度为 $1.155 \times 10^{-2} / 160 = 7.219 \times 10^{-5}$ 。

#### 3.1.3 标定高氯酸消耗滴定液体积的不确定度( $u_{V_1}$ )。

根据中国计量法中《中华人民共和国国家计量检定规程(容量仪器)》的有关规定<sup>[10]</sup>,标准正态分布时区间为 $(-1.96, 1.96)$ ,标定高氯酸所用10 ml酸性滴定管的误差为0.025 ml,则可按正态分布换算成标准不确定度: $2.5 \times 10^{-2} / 1.96 = 1.276 \times 10^{-2}$  ml, $V_1$ 只称量1次,则 $u_{V_1} = 1.276 \times 10^{-2}$  ml。高氯酸滴定液标定校正后使用体积为7.75 ml,相对标准不确定度为 $1.276 \times 10^{-2} / 7.75 = 1.646 \times 10^{-3}$ 。

#### 3.1.4 高氯酸滴定液标定重复性的不确定度( $u_{\text{标定(rep)}}$ )。

根据有关规定<sup>[10]</sup>,滴定分析的重复性为0.05%,采用该值作为滴定液标定时重复性的不确定度 $u_{\text{标定(rep)}}$ 。

$$u_{\text{标定(rep)}} = s / \sqrt{n} = 5 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 2.887 \times 10^{-4}。$$

标定高氯酸滴定液浓度为101.3 mmol/L,则方法重复性的相对标准不确定度为 $2.887 \times 10^{-4} / 101.3 = 2.850 \times 10^{-6}$ 。

#### 3.1.5 高氯酸滴定液浓度的不确定度( $u_{HClO_4}$ )。

合成标准不确定度为:

$$u_{HClO_4} = \sqrt{u_{KHP}^2 + u_{m_1}^2 + u_{V_1}^2 + u_{\text{标定(rep)}}^2} \times 101.3 = 0.167 0。$$

### 3.2 方法重复性的不确定度( $u_{\text{rep}}$ )

20组测量数据标准偏差为 $s = 5.016 \times 10^{-4}$ , $u_{\text{rep}} = s / \sqrt{n} = 5.016 \times 10^{-4} / \sqrt{20} = 1.122 \times 10^{-4}$ 。比沙可啶含量的标准值为99.816%,则方法重复性的相对标准不确定度为 $1.122 \times 10^{-4} / 0.998 16 = 1.124 \times 10^{-4}$ 。

### 3.3 自动电位滴定仪的不确定度( $u_T$ )

自动电位滴定仪由制造商提供,进行滴定分析的精度为 $\pm 0.02$  ml,采用矩形分布计算标准不确定度 $u_T = 0.02 / \sqrt{3} = 1.155 \times 10^{-2}$ 。20组纯度测量数据中,测定比沙可啶消耗滴定液体积最小值为8.328 7 ml,相对标准不确定度为 $1.155 \times 10^{-2} / 8.328 7 = 1.387 \times 10^{-2}$ 。

### 3.4 比沙可啶摩尔质量的不确定度( $u_M$ )

比沙可啶分子式为 $C_{22}H_{19}NO_4$ ,对于每个元素,标准不确定

度是将国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)所列不确定度作为矩形分布的极差计算得到的<sup>[1]</sup>。因此标准不确定度等于查得数值除以 $\sqrt{3}$ ,结果见表1。

表1 比沙可啶中各个元素的不确定度分量

元素	数量	计算式	结果	标准不确定度
C	22	$22 \times 12.010\ 7$	264.235 4	$1.0 \times 10^{-2}$
H	19	$19 \times 1.007\ 9$	19.150 9	$7.6 \times 10^{-4}$
O	4	$4 \times 15.999\ 4$	63.997 6	$6.8 \times 10^{-4}$
N	1	$1 \times 14.006\ 7$	14.006 7	$1.2 \times 10^{-4}$

表1各数值的不确定度是由各元素的标准不确定度数值乘以原子数计算得到的。比沙可啶的摩尔质量为: $M_{C_{22}H_{19}NO_4} = 361.290\ 6$ 。

上式为各独立数值之和,因此标准不确定度 $u_M$ 就等于各不确定度分量平方和的平方根:

$$u_M = \sqrt{0.010^2 + 0.000\ 76^2 + 0.000\ 68^2 + 0.000\ 12^2} = 1.005 \times 10^{-2}$$

### 3.5 含量测定中比沙可啶称量的不确定度( $u_m$ )

用电子天平准确称取供试品的质量,根据证书所述电子天平最大允许误差为 $\pm 0.02\ mg$ ,按矩形分布, $k = \sqrt{3}$ ,计算标准不确定度 $u_m = 0.02/\sqrt{3} = 1.155 \times 10^{-2}$ 。20组纯度测量数据中,称量最小值为299.65 mg,相对标准不确定度为 $1.155 \times 10^{-2}/299.65 = 3.854 \times 10^{-5}$ 。

### 3.6 测定比沙可啶消耗滴定液体积的不确定度( $u_V$ )

测定比沙可啶所用10 ml 酸性滴定管的误差为0.025 ml,则可按正态分布换算成标准不确定度: $2.5 \times 10^{-2}/1.96 = 1.276 \times 10^{-2}\ ml$ , $V_2$ 只测量1次,则 $u_{V_2} = 1.276 \times 10^{-2}\ ml$ 。测定比沙可啶消耗滴定液体积最小值为8.328 7 ml,相对标准不确定度为 $1.276 \times 10^{-2}/8.328\ 7 = 1.532 \times 10^{-3}$ 。

### 3.7 合成标准不确定度

不确定度各合成分量贡献分析结果见表2。

表2 比沙可啶含量测定的不确定度评定结果

Tab 2 Uncertainty evaluation of content determination of bisacodyl

标准不确定度分量	标准不确定度	数值	相对标准不确定度
高氯酸滴定液浓度( $u_{HClO_4}$ )	0.167 0	101.3	$1.649 \times 10^{-3}$
方法重复性( $u_{rep}$ )	$1.122 \times 10^{-4}$	99.816%	$1.124 \times 10^{-4}$
自动电位滴定仪( $u_T$ )	$1.155 \times 10^{-2}$	8.328 7	$1.387 \times 10^{-2}$
比沙可啶摩尔质量( $u_M$ )	$1.005 \times 10^{-2}$	361.290 6	$2.782 \times 10^{-5}$
比沙可啶称量( $u_m$ )	$1.155 \times 10^{-2}$	299.65	$3.854 \times 10^{-5}$
测定比沙可啶消耗滴定液体积( $u_V$ )	$1.276 \times 10^{-2}$	8.328 7	$1.532 \times 10^{-3}$

则合成标准不确定度为:

$$u_c(x)/\bar{x} = \sqrt{u_{HClO_4}^2 + u_{rep}^2 + u_T^2 + u_M^2 + u_m^2 + u_V^2} = 0.002\ 647$$

计算合成标准不确定度: $u_c(x) = 0.002\ 647 \times 99.816\% = 0.264\%$ 。

### 3.8 扩展不确定度、含量标准值及不确定度

根据JJF 1059-1999<sup>[5]</sup>,当不确定度分布为均匀分布且置信概率为0.95时,扩展不确定度的包含因子 $k=2$ ,其扩展不确定度 $U$ 为: $U(x) = k \times u_c(x) = 2 \times 0.264\% = 0.528\%$ 。因此,比沙可啶含量标准值及不确定度为 $99.82\% \pm 0.53\%$ 。

## 4 讨论

(1)在不确定度评定结果中,测定比沙可啶所用滴定液体

积、高氯酸滴定液浓度和自动电位滴定仪三者不确定度分量对评定总不确定度影响较大。所以,自动电位滴定仪的定期校准检定对药品质量分析和控制具有重要作用;同时还应严格控制对滴定液可能产生影响的因素,定期复标滴定液浓度。

(2)高氯酸滴定液对温度变化较敏感,故测定供试品与标定高氯酸滴定液时的温度尽量保持一致;如不一致,应重新标定(温差大于 $10\ ^\circ C$ )或对高氯酸滴定液浓度加以校正(温差在 $10\ ^\circ C$ 以内)。本文中高氯酸滴定液的标定与使用的温度一致,所以未考虑温度的影响。

(3)在含量测定时,本文采用了双人独立操作,一定程度上避免了单人在试验过程中操作和肉眼读数习惯所造成的误差问题。

(4)非水电位滴定法作为测定比沙可啶纯度的经典方法,建立其不确定度评定方法十分重要,同时也可作为比沙可啶纯度标准物质的研制和申报工作提供科学依据,并还可为采用其他不同原理检测方法测定比沙可啶纯度提供数据支撑。

本论文研究的比沙可啶纯度标准物质品种为我国与国际上首次研制,论文建立的不确定度评估数学模型和定值方法实现了与国际标准物质研制水平接轨的目标,同时也可作为采用非水电位滴定法对其他药物进行纯度测量、不确定度模型建立及评定提供有效可靠的参考。

## 参考文献

- [1] 张轶华,韩学静,王晓琦.非水电位滴定法测定盐酸特比萘芬原料药含量方法的改进[J].中国药房,2010,21(29):2774.
- [2] 姜瑛,吕丽娟,代奕,等.非水滴定法测定帕拉米韦原料药中帕拉米韦[J].现代药物与临床,2013,28(2):200.
- [3] 聂忠莉,王晓玲,李长生,等.非水电位滴定法测定阿戈美拉汀工作对照品的含量[J].成都大学学报:自然科学版,2012,31(3):221.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:55、附录46.
- [5] 国家质量技术监督局.测量不确定度评定与表示 JJF 1059-1999[S].北京:中国计量出版社,1999:1569-1587.
- [6] 中国合格评定国家认可委员会.化学分析中不确定度的评估指南 CNAS-GL06 [S].北京:中国计量出版社,2006:6-38.
- [7] 国家质量监督检验检疫总局.常用玻璃量器检定规程 JJG196-2006[S].北京:中国计量出版社,2006:6-8.
- [8] 倪育才.实用测量不确定度评定[M].北京:中国计量出版社,2004:27-34.
- [9] 陆明,范国荣,汪杨,等.测量不确定度在药品领域的应用[J].医药导报,2013,32(8):1053.
- [10] 国家质量技术监督局.中华人民共和国国家计量检定规程:容量仪器[S].北京:中国标准出版社,2000:4-6.
- [11] Michael EW, Norman H, Tyler BC, et al. Atomic weights of the elements 2011[J]. Pure Appl Chem, 2013, 85(5):1047.

(收稿日期:2014-02-10 修回日期:2014-04-01)