

差示扫描量热法测定比沙可啶原料药纯度及不确定度评定

郭永辉^{1*}, 吕丽娟², 韩学静¹, 闫凯¹(1.河北省药品检验研究院, 石家庄 050011; 2.天津农学院基础科学系, 天津 300384)

中图分类号 R917; R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2581-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.48

摘要 目的: 建立测定比沙可啶原料药纯度及不确定度评定的方法。方法: 采用差示扫描量热(DSC)法对比沙可啶原料药纯度进行测定, 确定最优检测条件; 依据相关标准, 对仪器校准焓变、测量重复性、称量过程、仪器温度偏差、系统软件偏差5个不确定度分量进行系统分析。采用高效液相色谱(HPLC)法对结果进行验证。结果: 置信概率 P 为0.95时, 采用DSC法测定比沙可啶原料药纯度结果的标准值及其不确定度为 $(99.88 \pm 0.06)\%$ 。其中称量过程、仪器温度偏差和系统软件偏差对总不确定度影响较大。DSC法与HPLC法测定结果一致。结论: 所建立的DSC法可以快速、准确地测定比沙可啶原料药纯度, 为其纯度测定提供了一种新的分析方法。DSC仪器的定期校准检定和称量过程的严格控制有利于提高DSC法测定的准确度。

关键词 差示扫描量热法; 高效液相色谱法; 比沙可啶; 不确定度

Determination of Purity and Uncertainty Evaluation of Bisacodyl by Differential Scanning Calorimetry

GUO Yong-hui¹, LYU Li-juan², HAN Xue-jing¹, YAN Kai¹ (1. Hebei Institute for Drug Inspection, Shijiazhuang 050011, China; 2. Dept. of Basic Science, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the purity determination of bisacodyl by differential scanning calorimetry (DSC) and the valuation of uncertainty. METHODS: DSC was conducted to detect the purity of bisacodyl and determine the optimal testing conditions. According to related standards, indium enthalpy change values, measurement repeatability, weighing process, instrument temperature deviation and system software deviation were systematically analyzed. The results were verified by HPLC. RESULTS: When the fiducial probability P was 0.95, the standard value and uncertainty of content of bisacodyl was $(99.88 \pm 0.06)\%$ measured by DSC. Weighing process, instrument temperature deviation and system software deviation had great effects on the total uncertainty. The result of HPLC and DSC were the same. CONCLUSIONS: The established DSC can quickly and accurately determine the chemical purity of bisacodyl. The uncertainty evaluation is reliable. Regularly calibrated and verified equipment and strict control of the weighing process will help to improve the accuracy measured by DSC; and it provides a new analysis method for the determination of purity of bisacodyl.

KEYWORDS Differential scanning calorimetry; HPLC; Bisacodyl; Uncertain

比沙可啶为2010年版《中国药典》收录的品种, 是临床上使用广泛的通便剂^[1]。目前报道的比沙可啶化学纯度测定方法仅有非水滴定法^[1]和高效液相色谱(HPLC)法^[2-3], 两种方法测定时试验过程烦琐, 并且对环境有污染。鉴于国内外已广泛采用差示扫描量热(DSC)法对药品纯度进行检测^[4-5], 本试验采用DSC法测定了比沙可啶原料药的纯度, 并参考相关资料^[6-7]对DSC法测定过程进行了不确定度评定, 同时采用HPLC法对DSC法测定结果进行了验证。

1 材料与方法

1.1 材料

DSC-1型DSC仪, 包括标准40 μ l铝坩埚(瑞士Mettler-Toledo公司); 2695型HPLC仪(美国Waters公司); XS105型分析天平(感量: 0.01 mg, 瑞士Mettler-Toledo公司)。

乙腈(德国Merck公司)为色谱纯; 水为超纯水; 钢[国家一级热标准物质, 批号: GBW13202, 熔点: $(429.75 \pm 0.01)\text{K}$]; 比沙可啶原料药样品来自河北康泰药业有限公司(批号: 130501, 规格: 10 g/瓶, HPLC色谱纯度: 99.9%)。

1.2 DSC法

精密称取样品适量, 置于40 μ l的标准铝坩埚中, 压盖, 放

置于DSC仪中, 采用40 μ l标准铝空坩埚作为参比坩埚。炉体气氛: 静态空气; 称样量: 2.0~4.2 mg; 升温速率: 2 K/min。记录DSC热流值吸热峰面积, 采用瑞士Mettler-Toledo公司的STARe分析软件自动计算其纯度及软件的系统偏差。

1.3 HPLC法

根据文献报道的HPLC条件^[2-3], 采用与文献不同的色谱柱, 优化了流动相比比例, 对比沙可啶原料药纯度进行测定。色谱柱: Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-水(60:40, V/V); 检测波长: 265 nm; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μ l。记录色谱图及峰面积, 利用面积归一化法进行纯度计算。

2 结果

2.1 DSC法影响因素分析

分别对DSC法测定样品纯度的3个可能的影响因素炉体气氛、升温速率和称样量进行了分析探讨^[8]。最终确定检测条件: 炉体气氛为静态空气; 称样量为2.0~4.2 mg; 升温速率为2 K/min。比沙可啶的DSC法检测结果详见图1。

2.2 DSC法方法学验证

2.2.1 线性关系考察 精密称取6份2.04~3.99 mg的样品, 按“1.2”项下方法测定, 记录热流值吸热峰面积。以称样量(x , mg)为横坐标, 吸热峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方

* 主管药师, 博士。研究方向: 药品质量控制与标准物质研制。
E-mail: guo19830723@163.com

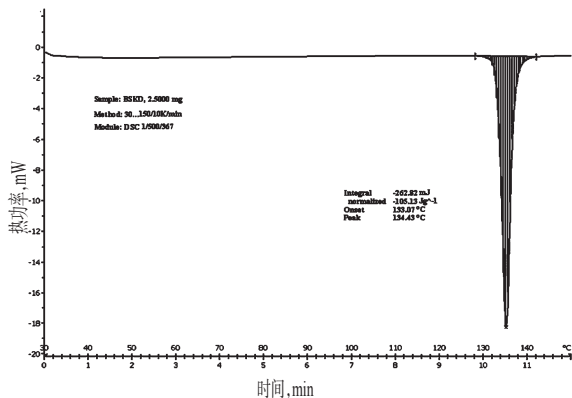


图1 差示扫描量热图

Fig 1 DSC atlas

程 $y=103.76x+4.387(r=0.9999)$ 。结果表明,比沙可啶称样量在2.04~3.99 mg范围内与其吸热峰面积呈良好的线性关系。

2.2.2 精密度试验 精密称取6份3.00 mg的样品,按“1.2”项下DSC法测定,记录热流值吸热峰面积。结果,比沙可啶热流值吸热峰面积分别为314.84、316.29、315.07、316.10、314.97、315.78, RSD=0.20%,表明DSC法精密度良好。

2.3 DSC法不确定度评估

2.3.1 DSC法不确定度评估模型的建立 DSC法测量物质纯度由Van't Hoff方程表示,由此建立不确定度评估数学模型为: $x=[1-\frac{(T_0-T_m)\Delta H}{RT_0^2}]\times 100\%$ 。式中, T_0 表示理想中纯物质熔点值(凝固点),单位为K; T_m 表示物质的真实熔点值(凝固点),单位为K; R 表示气体常数,即8.314 J/(K·mol); x 表示纯物质的摩尔百分比; ΔH 表示物质的摩尔熔融焓变值,单位为J/mol; T_0-T_m 表示物质因杂质存在而导致的熔点下降值。

2.3.2 DSC法标准值的确定 按“1.2”项下方法测定10份样品,记录热流值吸热峰面积,计算纯度。结果,10份样品纯度分别为99.87%、99.87%、99.89%、99.89%、99.88%、99.89%、99.88%、99.86%、99.86%、99.88%。

2.3.3 格拉布斯(Grubbs)检验 采用格拉布斯检验对得到的样品10组纯度测量数据进行可疑值剔除,经计算 $G=1.724$ 。查格拉布斯临界值表知 $G_{0.95}(10)=2.176$,即 $G < G_{0.95}(10)$,故10组数据中无可疑值存在。

2.3.4 标准值 由样品10组纯度测量数据得比沙可啶纯度标准值为99.88%,标准偏差(S)= 1.160×10^{-4} 。

2.3.5 各分量不确定度评估 (1)仪器校准中钢标定焓变产生的不确定度 $[u_{B1(DSC)}]$,属B类不确定度。对标准物质钢的熔融焓变进行10次测量,测量平均值: $\bar{x}=-28.64$ J/g,试验标准偏差(S)= 8.76×10^{-3} 。用钢标定焓变时产生的标准不确定度为: $u_{B1(DSC)}=S/\sqrt{n}=8.76\times 10^{-3}/\sqrt{10}=2.77\times 10^{-3}$ J/g。

(2)测量重复性产生的不确定度 $[u_{A1(DSC)}]$,属A类不确定度。以10组纯度值作为测量结果,则: $u_{A1(DSC)}=S/\sqrt{n}$ 。式中, S 表示标准偏差, n 表示测量次数。经计算, $u_{A1(DSC)}=S/\sqrt{n}=1.160\times 10^{-4}/\sqrt{10}=3.67\times 10^{-5}$ 。

(3)样品称量过程天平称量偏差产生的不确定度 $[u_{B2(DSC)}]$,属B类不确定度。样品摩尔熔融焓变的计算公式为: $\Delta H=\frac{Q}{m/M}$ 。式中, Q 表示样品吸收(或放出)的热量,单位为J; m 表示样品的质量,单位为g; M 表示样品的摩尔质量,单位为g/mol。因天平称量偏差产生的摩尔熔融焓变偏差可通过 ΔH 对

m 求偏导得到,即: $\frac{\partial \Delta H}{\partial m} dm = -\frac{QM}{m^2} dm = -\frac{\Delta H}{m} dm$ 。在试样称量过程中,使用感量为0.01 mg的XS105型分析天平,其称量误差 $dm=0.02$ mg,由于10次称量最小样品质量为2.45 mg,取 $m=2.45$ mg。由试验结果可知,比沙可啶的 $\Delta H=4.8006$ kJ/mol(试验结果的平均值,下同)。

由 $X=\frac{(T_0-T_m)\Delta H}{RT_0^2}$,则天平产生的不确定度为: $\frac{\partial X}{\partial m} dm = \frac{(T_0-T_m)\Delta H}{RT_0^2 m} dm$ 。根据试验结果,比沙可啶的 $T_0=405.987$ K, $T_m=407.678$ K(试验结果的平均值,下同)。将各数据代入公式计算得: $\frac{\partial X}{\partial m} dm = 48.4\times 10^{-4}$ 。

将本试验的不确定度分布按均匀分布考虑,由标准JJF1059-1999^[6]可知,标准不确定度的包含因子 $K=\sqrt{3}$,则:

$$u_{B2(DSC)} = (\frac{\partial X}{\partial m} dm) / \sqrt{3} = 2.79\times 10^{-4}$$

(4)温度偏差产生的不确定度及标准不确定度 $[u_{B3(DSC)}]$,属B类不确定度。仪器温度偏差产生的不确定度为: $(\frac{\partial X}{\partial T_0} + \frac{\partial X}{\partial T_m}) dT = \frac{2\Delta H}{RT_0^2} (\frac{T_m}{T_0} - 1) dT$ 。用标准物质钢对仪器进行校准,仪器对样品的温度偏差为 $dT=0.01$ K,将各数据代入公式并取正值得: $(\frac{\partial X}{\partial T_0} + \frac{\partial X}{\partial T_m}) dT = 2.79\times 10^{-6}$,故: $u_{B3(DSC)} =$

$$(\frac{\partial X}{\partial T_0} + \frac{\partial X}{\partial T_m}) dT / \sqrt{3} = 1.68\times 10^{-6}$$

(5)系统软件偏差产生的不确定度及标准不确定度 $[u_{B4(DSC)}]$,属B类不确定度。样品纯度分析软件误差由软件给出,具体分别为0.009 79%、0.007 44%、0.006 68%、0.014 38%、0.015 65%、0.019 85%、0.016 62%、0.012 02%、0.024 34%、0.010 59%。样品纯度偏差最大值为0.024 34%,不确定度分布按均匀分布考虑,标准不确定度的包含因子 $K=\sqrt{3}$,由此产生的不确定度为: $u_{B4(DSC)}=2.434\times 10^{-4}/K=1.41\times 10^{-4}$ 。

(6)合成标准不确定度 $[u_{(DSC)}]$ 。样品含量测定的不确定度评定结果见表1。

表1 样品含量测定的不确定度评定结果

Tab 1 Uncertainty evaluation results of content determination of samples

| 标准不确定度分量 | 不确定度来源 | 数值 | 标准不确定度 | 相对标准不确定度 | 不确定度类别 |
|---------------|--------|------------|----------------------|----------------------|--------|
| $u_{B1(DSC)}$ | 钢标定焓变 | -28.64 J/g | 2.77×10^{-3} | 9.67×10^{-5} | B |
| $u_{A1(DSC)}$ | 测量重复性 | 99.88% | 3.67×10^{-5} | 3.67×10^{-5} | A |
| $u_{B2(DSC)}$ | 称量过程 | 2.45 mg | 2.79×10^{-4} | 1.14×10^{-4} | B |
| $u_{B3(DSC)}$ | 仪器温度 | 0.01 K | 1.68×10^{-6} | 1.68×10^{-4} | B |
| $u_{B4(DSC)}$ | 纯度分析软件 | 99.88% | 1.41×10^{-4} | 1.41×10^{-4} | B |

合成标准不确定度 $u_{(DSC)}$ 由各分量不确定度合成计算: $u_{(DSC)} = \sqrt{u_{B1(DSC)}^2 + u_{A1(DSC)}^2 + u_{B2(DSC)}^2 + u_{B3(DSC)}^2 + u_{B4(DSC)}^2} \times \bar{x} = 2.68\times 10^{-4}$ 。

扩展不确定度 $U=Ku_{(DSC)}$,包含因子 $K=2$,则扩展不确定度 $U=2.68\times 10^{-4}\times 2=5.36\times 10^{-4}$ 。则样品纯度结果的标准值及不确定度表示为 $(99.88\pm 0.06)\%$, $K=2$,置信概率 $P=0.95$ 。

2.4 HPLC法比较

按“1.3”项下HPLC条件,分别称取6份样品进行纯度测定,结果纯度分别为99.88%、99.89%、99.88%、99.90%、99.88%、99.89%,纯度平均值为99.89%。

采用 t 检验对样品DSC法与HPLC法测定结果进行比较, $t_{0.05,14}^{(DSC,HPLC)}=1.844$, $t_{0.05,14}^{(临界值)}=2.145$, $t_{0.05,14}^{(DSC)}$

以问题为基础的教学模式用于临床药理学教学评价体系建立的实践^Δ

韩吉^{1,2*}, 梁宇^{1,2}, 徐亚杰^{1,2}, 姜明燕^{1,2#}(1.中国医科大学附属第一医院药学部, 沈阳 110001; 2.中国医科大学第一临床药学教研室, 沈阳 110001)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2583-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.49

摘要 目的: 建立较为完善的以问题为基础(PBL)的临床药理学教学评价体系, 为提高临床药理学教学质量提供参考。方法: 通过专家咨询法建立PBL教学评价体系, 将其应用于中国医科大学2013—2014年度270名学生的临床药理学教学, 并对评价结果进行分析。结果: PBL教学能显著提高学生案例分析的能力。形成性评价结果表明, 大多数学生对教师及自身课堂表现满意, 认为PBL授课能够提高学生解决实际临床问题的能力、拓宽了知识面等。结论: 所建立的PBL教学评价体系全面、系统、客观, 能有效地反馈出教学中存在的问题, 促进了教学模式的优化及教学质量的提升。

关键词 临床药理学; 教学模式; 评价体系

Construction and Practice of Teaching Evaluation System of PBL Mode in Clinical Pharmacology

HAN Ji^{1,2}, LIANG Yu^{1,2}, XU Ya-jie^{1,2}, JIANG Ming-yan^{1,2}(1.Department of Pharmacy, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001; 2.Department of the First Clinical Pharmacy of China Medical University, Shenyang 110001)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish an overall teaching evaluation system for clinical pharmacology with PBL(problem-based learning) mode. METHODS: The teaching evaluation system was established by "Delphi" method, and it has been applied to 270 students at China Medical University in 2013-2014. RESULTS: According to the result of test score, PBL method can improve ability of analyzing medical records, while formative evaluation indicates most of the students are satisfied with class response. And PBL method also can enhance student's skill of clinical practice, broaden the knowledge and so on. CONCLUSIONS: The evaluation system was comprehensive with contents, systematic and objective, and it also can provide an effective feedback in teaching, which can accelerate the optimization of the teaching mode and improve the quality of education.

KEYWORDS Clinical pharmacology; Teaching mode; Evaluation system

HPLC) < $10^{-0.05}$ (临界值), 表明DSC法与HPLC法测定比沙可啶的纯度结果一致。

3 讨论

结果显示, 样品称量过程、仪器温度偏差、系统软件偏差对评定总不确定度影响较大。所以, DSC仪的定期校准检定对药品质量分析和控制起到重要作用。同时, 还应严格控制称量过程的准确度, 保证测定结果的准确性。

DSC法具有称样量少、前处理简单、环保、准确度高、重复性好等优点。本研究建立的采用DSC法测定比沙可啶原料药纯度的方法及其不确定度评估具有科学性和实用性, 并通过与采用HPLC法测定的结果进行比较得到验证。本文为比沙可啶纯度标准物质的研制提供了依据, 同时也为DSC法测定其他药物纯度及其不确定度模型建立和评定提供了参考。

参考文献

Δ 基金项目: 中华医学会医学教育分会、中国高等教育学会医学教育专业委员会医学教育研究立项课题(No.2012-FF-12)

* 药师。研究方向: 医院药学。电话: 024-83282557。E-mail: wshanji@126.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 医院药学、药物新剂型。电话: 024-83282619

- [1] 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.
- [2] 王卉, 杜春波, 沈立, 等. RP-HPLC法测定比沙可啶片剂含量及有关物质[J]. 药学进展, 2005, 29(12): 565.
- [3] 袁志江, 李晓红. HPLC法测定比沙可啶肠溶片的有关物质[J]. 中国药事, 2009, 23(8): 799.
- [4] Mathkar S, Kumar S, Bystol A, *et al.* The use of differential scanning calorimetry for the purity verification of pharmaceutical reference standards[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(3): 627.
- [5] 王杰晶, 李银峰, 李佩, 等. 差示扫描量热法在药物定性分析中的应用[J]. 现代药物与临床, 2013, 28(5): 815.
- [6] 国家质量技术监督局. JJF1059-1999 测量不确定度评定与表示[S]. 北京: 中国计量出版社, 1999: 1 569-1 587.
- [7] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL06 化学分析中不确定度的评估指南[S]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 6-38.
- [8] 郭永辉, 郭盈彩, 吕丽娟, 等. 差示扫描量热法测定比沙可啶的纯度[J]. 化学分析计量, 2014, 23(6): 46.

(收稿日期: 2014-07-16 修回日期: 2014-12-10)

(编辑: 余庆华)