

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมี อุปกรณ์

1.1 สารเคมี

- 1) Sodium valproate ยี่ห้อ Katwijk chemie ประเทศเนเธอร์แลนด์
- 2) Dibasic calcium phosphate anhydrous ยี่ห้อ SD BNI(CN) Co.,LTD ประเทศจีน
- 3) Lactose anhydrous ยี่ห้อ DMV-Fonterra Limited ประเทศนิวซีแลนด์
- 4) Microcrystalline cellulose PH 102 ยี่ห้อ Mingtai ประเทศไต้หวัน
- 5) Colloidal silicon dioxide ยี่ห้อ CABOT Corporation ประเทศเยอรมนี
- 6) β -cyclodextrin ยี่ห้อ ISP Limited ประเทศอังกฤษ
- 7) Talcum ยี่ห้อ Cheng Jinxin Mining Industry Co.,LTD ประเทศจีน
- 8) Sodium starch glycolate ยี่ห้อ DMV-Fonterra excipients ประเทศเนเธอร์แลนด์
- 9) Magnesium stearate ยี่ห้อ Sun Ace KaKoh (PTE.)LTD ประเทศสิงคโปร์
- 10) Eudragit L100-55 ยี่ห้อ Evonik industries ประเทศเยอรมนี
- 11) Triethyl citrate ยี่ห้อ Vertellus ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 12) Titanium dioxide ยี่ห้อ Bull ประเทศจีน
- 13) Isopropyl alcohol ยี่ห้อ Shell Chemicals ประเทศไทย
- 14) HPLC grade methanol ยี่ห้อ Lab-Scan Analytical Sciences ประเทศไทย
- 15) 85% Ortho phosphoric acid ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 16) Tribasic sodium phosphate ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 17) Disodium hydrogen orthophosphate ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 18) Potassium dihydrogen phosphate ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 19) Potassium carbonate ยี่ห้อ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
- 20) Sodium chloride ยี่ห้อ RCI labscan limited ประเทศไทย
- 21) Hydrogen peroxide ยี่ห้อ ห้างขายยาตราเสือดาว จำกัด ประเทศไทย
- 22) 37% Hydrochloric acid ยี่ห้อ Carlo erba reagents ประเทศอิตาลี
- 23) Sodium hydroxide ยี่ห้อ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ

1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องชั่งวิเคราะห์ ยี่ห้อ Sartorius ประเทศเยอรมนี
- 2) pH meter ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น S-20 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 3) Sonicator ยี่ห้อ Crest Ultrasonics corp. รุ่น 275HT ประเทศสหรัฐอเมริกา

- 4) High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ยี่ห้อ Dionex รุ่น UltiMate 3000 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5) เครื่องตอกเคียว ยี่ห้อ EKO ประเทศอินเดีย
- 6) เครื่องเคลือบฟิล์ม ยี่ห้อ Pharmaceuticals and Medical Supply Ltd รุ่น FC15” ประเทศไทย
- 7) เครื่องลดความชื้น (Dehumidifier) ยี่ห้อ Frigidaire company รุ่น FD518CVM ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 8) เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (Thermo-Hygrometer) ยี่ห้อ BARIGO รุ่น 8865 ประเทศเยอรมนี
- 9) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope, SEM) ยี่ห้อ Jeol scanning รุ่น JSM-6400 ประเทศญี่ปุ่น
- 10) เครื่อง FT-IR Spectrometer ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น Spectrum 100 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 11) เครื่องหาคาร์ละลายของยา ยี่ห้อ Electrolab รุ่น TDT-08L ประเทศอินเดีย
- 12) เครื่องหาคาร์แตกตัวของยา ยี่ห้อ Electrolab รุ่น ED-2L ประเทศอินเดีย
- 13) เครื่องทดสอบความแข็งของเม็ดยา (Tablet Hardness Tester) ยี่ห้อ Electrolab รุ่น EH 01 ประเทศอินเดีย
- 14) Vernier Caliper ยี่ห้อ Digicon ประเทศญี่ปุ่น
- 15) เครื่องวัดความกร่อน ยี่ห้อ Vankel รุ่น 45-2200 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 16) Karl Fischer autometric titration ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น DL18 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 17) เครื่องบรรจุแผงสตริป (Strip machine) ยี่ห้อ Gansons Engineers PVT LTD ประเทศอินเดีย
- 18) Stability chamber ยี่ห้อ Siam Incubator system Co.,LTD รุ่น SI 720 AEH ประเทศไทย
- 19) Centrifuge ยี่ห้อ ECCO รุ่น ECCO -Alpha-1 ประเทศเยอรมนี
- 20) ภาชนะทำแห้ง (Desiccator)

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ

1. การเสื่อมสลายของตัวยาสำคัญโดยศึกษาความคงสภาพแบบเครียด (Stress test)

ศึกษาความคงสภาพแบบเครียดของผงยาไซเดียมวาลโปรเอทในสภาวะต่างๆ เพื่อหาสภาวะที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของตัวยาใน 5 สภาวะ ได้แก่ Moisture hydrolysis, Temperature degradation, Oxidation, Acid hydrolysis และ Basic hydrolysis (จุไรรัตน์ รักษาทิน, 2547) โดยทำการทดสอบดังนี้

1.1 Moisture hydrolysis เพื่อศึกษาว่าตัวยาเกิดการเสื่อมสลายด้วยน้ำหรือความชื้นหรือไม่ โดยชั่งตัวยาสำคัญ 160 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำ 5 หยดลงในผสมให้เข้ากัน และนำไปทำให้ร้อนประมาณ 100°C ทุกวัน วันละ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วนำมาเติม Mobile phase ประมาณ 15 มิลลิลิตร เติม 10% v/v Ortho phosphoric acid (H_3PO_4) จำนวน 1 มิลลิลิตร และปรับ

ปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน และนำมาฉีดเข้า HPLC ใช้ Run time 45 นาที

1.2 Temperature degradation เพื่อศึกษาว่าตัวยาเกิดการเสื่อมสลายด้วยความร้อนหรือไม่ โดยชั่งตัวยาสำคัญ 160 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นไปทำให้ร้อนประมาณ 100°C ทุกวัน วันละ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วนำมาเติม Mobile phase ประมาณ 15 มิลลิลิตร เติม 10% v/v H_3PO_4 จำนวน 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน และนำมาฉีดเข้า HPLC ใช้ Run time 45 นาที

1.3 Oxidation ทดสอบเพื่อศึกษาว่าตัวยาเกิดการเสื่อมสลายด้วยปฏิกิริยา Oxidation หรือไม่ โดยชั่งตัวยาสำคัญ 160 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Hydrogen peroxide 5 หยด ผสมให้เข้ากัน และนำไปทำให้ร้อนประมาณ 100°C ทุกวัน วันละ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วนำมาเติม Mobile phase ประมาณ 15 มิลลิลิตร เติม 10% v/v H_3PO_4 จำนวน 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน และนำมาฉีดเข้า HPLC ใช้ Run time 45 นาที

1.4 Acid hydrolysis ทดสอบเพื่อศึกษาว่าตัวยาเกิดการเสื่อมสลายด้วยกรดหรือไม่ โดยชั่งตัวยาสำคัญ 160 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Hydrochloric acid (HCl) ความเข้มข้น 5 N จำนวน 5 หยด ผสมให้เข้ากัน และนำไปทำให้ร้อน ประมาณ 100°C ทุกวัน วันละ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และนำมาทำให้เป็นกลางด้วยสารละลาย Sodium hydroxide (NaOH) ความเข้มข้น 5 N จำนวน 5 หยด แล้วนำมาเติม Mobile phase ประมาณ 15 มิลลิลิตร เติม 10% v/v H_3PO_4 จำนวน 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน และนำมาฉีดเข้า HPLC ใช้ Run time 45 นาที

1.5 Basic hydrolysis ทดสอบเพื่อศึกษาว่าตัวยาเกิดการเสื่อมสลายด้วยด่างหรือไม่ โดยชั่งตัวยาสำคัญ 160 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 5 N จำนวน 5 หยด ผสมให้เข้ากัน และนำไปทำให้ร้อน ประมาณ 100°C ทุกวัน วันละ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และนำมาทำให้เป็นกลางด้วยสารละลาย HCl ความเข้มข้น 5 N จำนวน 5 หยด แล้วนำมาเติม Mobile phase ประมาณ 15 มิลลิลิตร เติม 10% v/v H_3PO_4 จำนวน 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน และนำมาฉีดเข้า HPLC ใช้ Run time 45 นาที

2. ศึกษาความไวต่อความชื้นของผงยาโซเดียมวาลโปรเอท

โดยนำผงยาโซเดียมวาลโปรเอทที่ทราบน้ำหนักแน่นอนจำนวน 3 ตัวอย่างเกลี่ยกระจายใน Petri dish แล้วนำไปเก็บไว้ในภาชนะทำแห้งที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ซึ่งเตรียมโดยใช้สารละลายอิมตัวโปแตสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3) ทำการชั่งน้ำหนักที่เวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน จากนั้นหาร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และทดสอบที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ซึ่งเตรียมโดยใช้สารละลายอิมตัวโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ทดสอบจำนวน 2 ตัวอย่าง ทำการชั่งน้ำหนักที่เวลา 0, 1 และ 2 วัน แล้วหาร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

3. ศึกษาเข้ากันได้ของสารช่วยในตำรับกับโซเดียมวาลโปเรท

โดยเตรียมผงยาโซเดียมวาลโปเรท, สารช่วยในตำรับต่างๆ และสารผสมระหว่างโซเดียมวาลโปเรทกับสารช่วยในตำรับ ทดสอบด้วยเครื่อง FT-IR Spectrometer แล้วเปรียบเทียบกราฟที่ได้

2.2 การตั้งตำรับยา

1. ออกแบบการทดลองเพื่อคัดเลือกสารช่วยในตำรับ

ออกแบบการทดลองโดยใช้แฟคทอเรียล ดีไซน์ 3 ระดับ จากการใช้ปริมาณของสารช่วยในตำรับที่ศึกษาที่แตกต่างกันจำนวน 3 ชั้น คือ น้อย ปานกลาง และมาก ซึ่งสารช่วยในตำรับ 5 ชนิด ได้แก่ Lactose anhydrous, β -Cyclodextrin, Dibasic calcium phosphate anhydrous, Microcrystalline cellulose PH 102 (MCC PH 102) และ Talcum ได้จำนวนการทดลองรวมทั้งสิ้น 52 ตำรับ โดยสารช่วยในตำรับที่ศึกษามีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1.1 Lactose anhydrous เป็นสารเพิ่มปริมาณ มีคุณสมบัติในการไหลที่ดีและมีความสามารถในการดกอัดเป็นเม็ดที่ดี ความชื้นต่ำไม่เกินร้อยละ 1

1.2 MCC PH102 เป็นสารเพิ่มปริมาณที่มีคุณสมบัติในการยึดเกาะสูง มีความสามารถในการพาสารตัวอื่นๆ ได้ดี ทำให้เม็ดยาแข็งและแตกตัวได้ง่าย ความชื้นไม่เกินร้อยละ 5

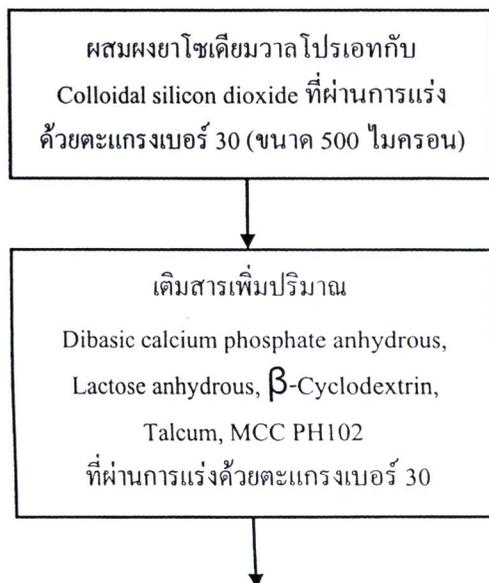
1.3 β -Cyclodextrin มีคุณสมบัติเป็นสารเพิ่มความคงสภาพไม่ดูดความชื้น สามารถใช้ในการผลิตยาเม็ดทั้งวิธีแกรนูลเปียกและวิธีการดกโดยตรง มีความสามารถในการเพิ่มการละลายของยา

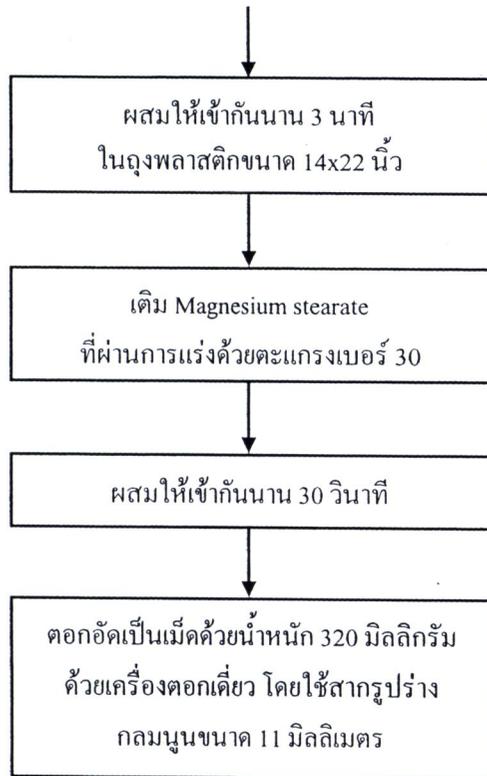
1.4 Dibasic calcium phosphate anhydrous เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ มีคุณสมบัติในการไหลที่ดี มีความคงตัวดี ไม่ดูดความชื้น และมีความชื้นต่ำเพียงร้อยละ 0.1-0.2

1.5 Talcum มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ เป็นสารเพิ่มปริมาณ สารช่วยดูดซับและสารช่วยไหล

2. กระบวนการผลิต

ผลิตด้วยวิธีดกโดยตรง มีส่วนประกอบในตำรับดังตารางที่ 8 โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้





โดยระหว่างการผลิตควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ไม่เกินร้อยละ 50 เนื่องจากเป็นความชื้นสัมพัทธ์ที่ผู้วิจัยได้ทดสอบแล้วว่าตัวยังคงอยู่ในสถานะของแข็ง และเป็นสถานะที่สามารถควบคุมการผลิตในอุตสาหกรรมได้ โดยใช้เครื่องมือที่ไม่ซับซ้อน คือ ใช้เครื่องลดความชื้น (Dehumidifier) และใช้เครื่องปรับอากาศภายใต้ห้องที่ปิดอย่างมิดชิด

ตารางที่ 8 ส่วนประกอบในตำรับของเม็ดยาโซเดียมวาลโปรเอท

ส่วนประกอบในตำรับ	สัดส่วนในตำรับ (ร้อยละ)	หน้าที่ในตำรับ
Sodium valproate	62.5	ตัวยาคำคัญ
Lactose/ β -Cyclodextrin/ Dibasic calcium phosphate anhydrous /Talcum	แปรผัน	สารเพิ่มปริมาณ
Sodium starch glycolate	3	สารช่วยแตกตัว
Colloidal silicon dioxide	1	สารช่วยไหล/ สารดูดซับ
Magnesium stearate	2	สารช่วยลื่น
MCC PH 102 qs to.	100	สารเพิ่มปริมาณ

3. ประเมินสูตรตำรับเพื่อคัดเลือกสูตรที่ดี 5 ตำรับเพื่อนำไปทำการเคลือบฟิล์ม

เมื่อทำการดกอัดเม็ดยาจำนวน 52 ตำรับ นำมาประเมินเพื่อคัดเลือกสูตรที่ดี 5 ตำรับ โดยมีเกณฑ์การประเมินดังนี้

3.1 ความยากง่ายในการดกอัดเป็นเม็ด เช่น การไหลของยา, การติดสาก, เม็ดยาเกิดกระเพาะเป็นแผ่น (Capping), ความแปรปรวนของน้ำหนัก (Weight variation) เป็นต้น

3.2 ทดสอบความสามารถของสารช่วยต่อการดูดซับความชื้นของเม็ดยา (Moisture absorption) โดยวัดจากน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของเม็ดยาเมื่อนำเม็ดยาจำนวน 10 เม็ด ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน เก็บในภาชนะทำแห้งที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ไม่เกินร้อยละ 75 เป็นเวลา 2 วัน แล้วหาร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

3.3 ลักษณะทางกายภาพ เช่น การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดยา, การเชื่อมเหลวของเม็ดยา เป็นต้น

4. ตั้งสูตรน้ำยาเคลือบฟิล์มเอนเทอร์ิก

4.1 เลือก Eudragit® L100-55 เป็นสารเคลือบเอนเทอร์ิก ซึ่งมีคุณสมบัติแตกตัวที่พีเอชมากกว่าหรือเท่ากับ 5.5 และสามารถเตรียมโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อหลีกเลี่ยงเม็ดยาสัมผัสกับน้ำ โดยมีส่วนประกอบของน้ำยาเคลือบฟิล์มดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ส่วนประกอบในน้ำยาเคลือบฟิล์ม

ส่วนประกอบในน้ำยาเคลือบฟิล์ม	สัดส่วน (w/w)	หน้าที่
Eudragit® L100-55	ร้อยละ 2.5-7.5 ของน้ำหนักเม็ดยา	สารเคลือบเอนเทอร์ิก
Talcum	45% of Polymer weight	สารกันติด
Magnesium stearate	0.28%	สารช่วยลื่น
Titanium dioxide	3%	สารทึบแสง
Polyethylene glycol 400 (PEG) /Triethyl citrate	10-20% of Polymer weight	พลาสติกไซเซอร์
Isopropyl alcohol qs to	100%	ตัวทำละลาย

4.2 วิธีการเตรียมน้ำยาเคลือบฟิล์ม

กระจาย Eudragit® L100-55 ใน Isopropyl alcohol คนจนกระทั่งละลายหมด ทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นเติม PEG หรือ Triethyl citrate ลงไปผสมจนเข้ากัน แล้วค่อยๆ โปริย Talcum, Magnesium stearate และ Titanium dioxide ลงไป คนจนเข้ากัน หลังจากนั้นนำน้ำยาเคลือบฟิล์มผ่าน Colloid mill

4.3 ทดสอบหาค่าที่เหมาะสมของตัวแปรสำคัญในการเคลือบฟิล์มเอนเทอร์ิก

ก่อนการเคลือบฟิล์มเอนเทอร์ิกด้วยเครื่องเคลือบฟิล์ม ต้องทำการทดสอบหาค่าที่เหมาะสมของตัวแปรสำคัญในการเคลือบฟิล์มเอนเทอร์ิก โดยตัวแปรสำคัญที่ศึกษาได้แก่

4.3.1 ปริมาณเม็ดยาที่เคลือบ โดยนำเม็ดยาปริมาณ 1, 1.5 และ 2 กิโลกรัม ทดสอบกลิ้งในหม้อเคลือบฟิล์ม เพื่อหาปริมาณของเม็ดยาที่เหมาะสมในการเคลือบด้วยเครื่องเคลือบฟิล์ม

4.3.2 ระยะห่างระหว่างหัวสเปรย์กับเม็ดยา กำหนดระยะทดสอบที่ระยะ 5 และ 10 เซนติเมตร เพื่อหาระยะที่เหมาะสมในการเคลือบฟิล์ม

4.3.3 ความดันลม (Atomizing air pressure) ทดสอบที่ความดันลม 45 และ 50 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (Psi) เพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่ทำให้น้ำยาเคลือบพ่นได้เป็นละออง

4.3.4 ความเร็วในการหมุนของหม้อเคลือบ ทำการทดสอบที่ 4 และ 5 รอบต่อนาที เพื่อหาความเร็วในการหมุนของหม้อเคลือบที่เหมาะสม เม็ดยาสามารถกลิ้งรับน้ำยาเคลือบฟิล์มได้อย่างสม่ำเสมอและไม่ทำให้เม็ดยากร่อน

4.3.5 อัตราเร็วในการพ่นน้ำยาเคลือบ (Spray rate) ทดสอบที่ 3, 4 และ 5 rpm เพื่อหาอัตราเร็วในการพ่นน้ำยาที่เหมาะสมที่ไม่ทำให้น้ำยาเคลือบฟิล์มแห้งเร็วจนเกินไป เม็ดยาสามารถรับน้ำยาเคลือบและระเหยได้ทันเวลา

5. ศึกษาปริมาณของฟิล์มเอนเทอริคต่อการต้านกรด

โดยทั่วไป Eudragit® L100-55 ที่ใช้ในการเคลือบฟิล์มเอนเทอริค ใช้ในปริมาณ 4-6 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรของพื้นที่ผิวเม็ดยา (Evonik, 2009) ซึ่งเม็ดยาโซเดียมวาเลโปรเอท 1 เม็ดมีพื้นที่ผิวประมาณ 1.87 ตารางเซนติเมตร ดังนั้นต้องใช้ Eudragit® L100-55 ในปริมาณ 7.5-11.2 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละได้เท่ากับ 2.3-3.5 ของน้ำหนักเม็ดยา ดังนั้นในการทดลองจึงเคลือบฟิล์มบนเม็ดยาด้วยปริมาณ Eudragit® L100-55 ร้อยละ 2.5, 4, 5, 6 และ 7.5 ของน้ำหนักเม็ดยาแล้วนำไปทดสอบหาเวลาในการแตกตัวของยาตามมาตรฐานเภสัชตำรับใน BP 2004 Appendix XII B โดยทดสอบในสารละลาย 0.1 M HCl เป็นเวลา 2 ชั่วโมงจากนั้นนำไปทดสอบต่อในสารละลาย Phosphate buffer pH 6.8 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเกณฑ์ที่กำหนดคือ เมื่อครบเวลาในสารละลาย 0.1 M HCl ต้องไม่มีเม็ดยาเคลือบที่เสียหายหรือฉีกขาด และในสารละลาย Phosphate buffer pH 6.8 เม็ดยาต้องแตกตัวหมดภายใน 1 ชั่วโมง

6. ถ่ายภาพผิวเม็ดยาเคลือบและถ่ายภาพตัดขวาง เพื่อศึกษาลักษณะฟิล์มที่ได้และความหนาของฟิล์มที่เคลือบโดยใช้เครื่องถ่ายภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอน กำลังขยาย 100 เท่า

7. ประสิทธิภาพของการเคลือบฟิล์ม (Coating efficiency) (Obara et al., 1999)

การหาประสิทธิภาพในการเคลือบฟิล์ม สามารถบอกถึงคุณภาพในการเคลือบยา โดยคำนวณจากประสิทธิภาพของการเคลือบฟิล์ม

$$\text{Coating efficiency} = \frac{\text{Wt (b)}}{\text{Wt (a)}} \times 100$$

Wt (a) = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจากทฤษฎี

Wt (b) = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นหลังการเคลือบ

8. ศึกษาความสามารถในการป้องกันความชื้นของฟิล์มเอนเทอริค และความคงสภาพของเม็ดยา

ทดสอบความสามารถในการป้องกันความชื้นของเม็ดยา ซึ่งวัดจากน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของเม็ดยา โดยชั่งน้ำหนักเม็ดยาเคลือบ 1 เม็ด จำนวน 5 ตัวอย่าง เก็บในภาชนะทำแห้งที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ

75 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และทดสอบเก็บในภาชนะทำแห้งที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังการทดสอบทำการชั่งน้ำหนักเม็ดยาเพื่อหาร้อยละของน้ำหนักเม็ดยาที่เพิ่มขึ้น

9. การประเมินผลยาเม็ด โดยประเมินทั้งทางกายภาพและทางเคมีก่อนและหลังการเคลือบ

9.1 ลักษณะภายนอกของเม็ดยา โดยเม็ดยาก่อนการเคลือบต้องมีผิวเม็ดยาที่เรียบ ไม่ขรุขระ ขอบเม็ดยาไม่มีรอย เม็ดยาไม่ติดสาก ส่วนเม็ดยาที่เคลือบฟิล์มแล้วต้องมีผิวเรียบ ไม่ขรุขระ

9.2 ทดสอบความแข็งของเม็ดยา โดยใช้เครื่องทดสอบความแข็งของเม็ดยา (Tablet hardness tester) โดยทดสอบจำนวน 10 เม็ดก่อนการเคลือบและหลังการเคลือบ

9.3 ทดสอบความหนาของเม็ดยา โดยใช้เครื่อง Vernier caliper โดยทดสอบจำนวน 10 เม็ดก่อนการเคลือบและหลังการเคลือบ

9.4 ทดสอบความกร่อนตามมาตรฐานเภสัชตำรับใน BP 2004 ทดสอบในขั้นตอนก่อนเคลือบ โดยชั่งน้ำหนักเม็ดยาจำนวน 20 เม็ดอย่างละเอียด โดยปิดฝุ่นผงที่ติดเม็ดยาออกให้หมดก่อน แล้วนำไปใส่เครื่องวัดความกร่อนและปิดฝา จากนั้นเปิดเครื่องให้ยาเม็ดหมุน 100 รอบ แล้วนำเม็ดยาออกจากเครื่อง ปิดฝุ่นผงที่ติดเม็ดยาออกให้หมดแล้วนำไปชั่งอีกครั้ง คำนวณหาร้อยละของความกร่อน โดยความกร่อนต้องไม่เกินร้อยละ 1 ตามเกณฑ์ที่กำหนดในเภสัชตำรับ

9.5 ความชื้นของเม็ดยา ทำในขั้นตอนก่อนเคลือบและหลังเคลือบ โดยใช้วิธี Karl Fisher โดยการนำเม็ดยา 20 เม็ดมาบดให้ละเอียดแล้วนำผงยามา 1 กรัมแล้วเกลี่ยกระจายให้ทั่วจาน แล้วนำไปวัดความชื้น

9.6 ความสม่ำเสมอของตัวยาสำคัญ (Uniformity of dosage units) ตามมาตรฐานเภสัชตำรับใน USP30 ทดสอบหลังจากตอกอัดเป็นเม็ดและภายหลังจากการเคลือบฟิล์ม โดยสุ่มเม็ดยาจำนวน 10 เม็ด จากทั้งหมด 30 เม็ด ทำการชั่งเม็ดยารวม 10 เม็ดหาน้ำหนักเฉลี่ย (\bar{W}) และทำการชั่งน้ำหนักเม็ดยาทีละ 1 เม็ด (w_i) แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณตัวยาสำคัญในแต่ละเม็ด (X_i) เทียบกับปริมาณตัวยาสำคัญที่วิเคราะห์ได้ (A)

$$\text{การคำนวณ } X_i = w_i \times A / \bar{W}$$

เมื่อได้ค่า X_i แล้วคำนวณหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) จากนั้นคำนวณหาค่าที่ยอมรับได้ (Acceptance value, AV) ภายใต้งี๋นไขดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 เงื่อนไขการหาค่าที่ยอมรับได้ของการทดสอบหาความสม่ำเสมอของตัวยาสำคัญตามมาตรฐานเภสัชตำรับ USP 30

เงื่อนไข	ค่าที่ได้
<input type="radio"/> ถ้า $\bar{X} < 98.5\%$	$M = 98.5\%$
<input type="radio"/> ถ้า $98.5\% \leq \bar{X} \leq 101.5\%$	$M = \bar{X}$
<input type="radio"/> ถ้า $\bar{X} > 101.5$	$M = 101.5\%$

คำนวณค่าที่ยอมรับได้จากสูตร $|M - \bar{X}| + ks$

โดย $k = 2.4$

s = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เกณฑ์กำหนดคือ ค่าที่ยอมรับได้ต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 15

9.7 หาปริมาณด้วยยาสำคัญ (Assay) ทำการวิเคราะห์หลังจากคอกอดเป็นเม็ดและหลังการเคลือบฟิล์มเอนเทอริก โดยการวิเคราะห์อ้างอิงตามมาตรฐานเภสัชตำรับใน BP 2004 จากวิธีวิเคราะห์ของโซเดียมวาเลโปรเอทในรูปแบบยาน้ำ หน้าที่ 2742-3 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) คอลัมน์ RP-C18 : Gemini-NX 5 μm 110 A ขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร ตั้งวัดที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร อุณหภูมิ 25°C อัตราการไหลของ Mobile phase เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

9.7.1 เตรียม Mobile phase โดยผสม Methanol และสารละลาย 0.05 M Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4) ในอัตราส่วน 65:35 (v/v) และปรับ pH เท่ากับ 5 ด้วย 10% v/v H_3PO_4

9.7.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยทำการชั่งสารมาตรฐานของโซเดียมวาเลโปรเอท 160 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย Mobile phase ประมาณ 15 มิลลิลิตร เติม 10% v/v H_3PO_4 จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมและปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 50 มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน

9.7.3 วิเคราะห์หาปริมาณด้วยยาในแกรนูล โดยชั่งแกรนูล 256 มิลลิกรัม (คำนวณจากปริมาณด้วยยาสำคัญ 200 มิลลิกรัม จากน้ำหนักแกรนูล 320 มิลลิกรัม ถ้าเทียบกับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน 160 มิลลิกรัม ฉะนั้นต้องชั่งแกรนูลปริมาณ 256 มิลลิกรัม) ใน Volumetric Flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย Mobile phase ประมาณ 15 มิลลิลิตร เติม 10% v/v H_3PO_4 จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมและปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 50 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน

9.7.4 วิเคราะห์หาปริมาณด้วยยาในเม็ดยาเคลือบฟิล์มเอนเทอริก โดยชั่งเม็ดยาจำนวน 10 เม็ดใส่ใน Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Mobile phase ประมาณ 150 มิลลิลิตร นำไป Sonicate ด้วยเครื่อง Sonicator เป็นเวลา 20 นาที และเขย่าจนยาละลายแล้วปรับปริมาตรจนครบ 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 2500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 ทำการดูดสารละลาย 10 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม 10% v/v H_3PO_4 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 25 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน

9.7.5 ตรวจสอบความถูกต้องและแม่นยำของการวิเคราะห์ดังนี้

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ใช้วิเคราะห์ (Accuracy) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมวาเลโปรเอทจำนวน 5 ความเข้มข้นได้แก่ ความเข้มข้น 1.6, 2.4, 3.2, 4.0, 4.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง โดยใช้ Mobile phase คือ Methanol และสารละลาย 0.05 M KH_2PO_4 ในอัตราส่วน 65:35 (v/v) อัตราการไหลเท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วิเคราะห์โดยใช้ HPLC-UV Detector ตั้งวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร หลังจากนั้นหาความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมวาเลโปรเอทที่ใส่ลงไป (Quantity added) กับความเข้มข้นของ

โซเดียมวาล โปรเอทที่วิเคราะห์ได้ (Quantity found) พิจารณาหาค่า Correlation coefficient (R^2) และคำนวณหา ร้อยละของการคืนกลับ (Percent recovery) ในทุกระดับความเข้มข้น โดยเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือร้อยละ 98-102 และ %Relative Standard Deviation (RSD) ไม่เกินร้อยละ 2 (AOAC Peer Verified Methods Program, 1993)

การทดสอบความแม่นยำของการวิเคราะห์ (Precision) โดยเตรียม สารละลายมาตรฐาน โซเดียมวาล โปรเอทจำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ ความเข้มข้น 2.4, 3.2 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง และทดสอบซ้ำอีกในวันถัดไป โดยใช้ Mobile phase คือ Methanol และ สารละลาย 0.05 M KH_2PO_4 ในอัตราส่วน 65:35 (v/v) อัตราการไหลเท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วิเคราะห์โดยใช้ HPLC-UV Detector ตั้งวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร คำนวณหาความเข้มข้นของโซเดียมวาล โปรเอทที่ได้ส่งไปกับความเข้มข้นของโซเดียมวาล โปรเอทที่วิเคราะห์ได้และนำมาหาค่า RSD โดยต้องมีค่าไม่เกินร้อยละ 2 (AOAC Peer Verified Methods Program, 1993)

System suitability เพื่อยืนยันถึงความพร้อมของระบบ ซึ่งต้องทำทุกครั้ง ก่อนทำการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยสำคัญ ซึ่งใช้สารละลายมาตรฐาน โซเดียมวาล โปรเอทฉีดซ้ำจำนวน 6 ครั้ง ที่ สภาวะและวิธีเดียวกับสารตัวอย่าง นำมาหาค่า RSD โดยต้องมีค่าไม่เกินร้อยละ 2 (USP, 2006)

9.8 ทดสอบการแตกตัวของยา โดยทดสอบในขั้นตอนหลังการเคลือบฟิล์มเอนเทอร์ิก เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพการเคลือบฟิล์มเอนเทอร์ิก ซึ่งวิธีการทดสอบหาเวลาในการแตกตัวอ้างอิงตามมาตรฐาน เก็ดซ์ดาร์บี BP 2004 Appendix XII B โดยทดสอบในสารละลาย 0.1 M HCl เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไป ทดสอบต่อในสารละลาย Phosphate buffer pH 6.8 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเกณฑ์ที่กำหนดคือ เมื่อครบเวลาใน สารละลาย 0.1 M HCl ต้องไม่มีเม็ดยาเคลือบที่เสียหายหรือฉีกขาด และในสารละลาย Phosphate buffer pH 6.8 เม็ดยาต้องแตกตัวหมดภายใน 1 ชั่วโมง

9.9 ทดสอบการละลายของยาเปรียบเทียบกับตำรับยาในท้องตลาด

การทดสอบการละลายของยา ในเบื้องต้นทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี วิเคราะห์การละลาย (Validation of dissolution) โดยตรวจสอบความถูกต้องใน 2 สภาวะคือ ในสารละลาย 0.1 N HCl และในสารละลาย Phosphate buffer pH 6.8 ใช้ Mobile phase คือ Methanol และสารละลาย 0.05 M KH_2PO_4 ในอัตราส่วน 65:35 (v/v) อัตราการไหลของ Mobile phase เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ HPLC-UV Detector ตั้งวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร พบว่ามี Retention time ประมาณ 12 นาที โดยมีรายละเอียดการ ตรวจสอบความถูกต้องดังนี้

1. การตรวจสอบความถูกต้องในสารละลาย 0.1 N HCl

เตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยชั่งสารมาตรฐานของโซเดียมวาล โปรเอท 133 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย Mobile phase ประมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าจนตัวยาละลายหมดและปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 100 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลาย 10 มิลลิลิตรใส่ใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.1 N HCl จนครบ 50 มิลลิลิตร

เตรียมตัวอย่าง โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของโซเดียมวาล โปรเอท จำนวน 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 13.4, 26.7, 53.4, 80.1 และ 133.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หาพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) เพื่อนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของโซเดียมวาล โปรเอทที่วิเคราะห์ได้

2. การตรวจสอบความถูกต้องในสารละลาย Phosphate buffer pH 6.8

เตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยชั่งสารมาตรฐานของโซเดียมวาลโปรเอท 200 มิลลิกรัมใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย Mobile phase ประมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าจนตัวยาละลายหมดและปรับปริมาตรด้วย Mobile phase จนครบ 100 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลาย 10 มิลลิลิตรใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย 0.20 M Tribasic sodium phosphate จนครบ 25 มิลลิลิตร

เตรียมตัวอย่าง โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของโซเดียมวาลโปรเอท จำนวน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 240, 400, 560, 640, 800 และ 960 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หาพื้นที่ใต้กราฟเพื่อนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของโซเดียมวาลโปรเอทที่วิเคราะห์ได้

ทำการหาความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมวาลโปรเอทที่ใส่ลงไปกับความเข้มข้นของโซเดียมวาลโปรเอทที่วิเคราะห์ได้ พิจารณาค่า Correlation coefficient (R^2)

ทดสอบการละลายของยาซึ่งทดสอบในขั้นตอนหลังการเคลือบฟิล์มเอนเทอร์ิก โดยใช้เครื่องการละลายของยา ด้วยวิธีการทดสอบการละลายของยาในรูปแบบเคลือบเอนเทอร์ิกตามมาตรฐาน เกสซ์คาร์บ USP 30 Method A, Apparatus 2 ความเร็วรอบ 50 rpm แบ่งเป็น 2 ช่วงคือ 1) ในสารละลาย 0.1 N HCl ที่อุณหภูมิ $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเปลี่ยนเป็น 2) ในสารละลาย 0.20 M Tribasic sodium phosphate ที่อุณหภูมิ $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 6.8 ± 0.05 เป็นเวลา 45 นาที เกณฑ์ที่กำหนดคือในสารละลาย 0.1 N HCl ต้องมีตัวยาสัญสำคัญละลายออกมาไม่เกินร้อยละ 10 โดยเมื่อครบเวลา 2 ชั่วโมงในสารละลาย 0.1 N HCl เก็บตัวอย่างจำนวน 10 มิลลิลิตร และในสารละลาย Phosphate buffer pH 6.8 เก็บตัวอย่างที่เวลา 10, 20, 45 และ 60 นาที จากนั้นวัดปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อยโดยเครื่อง HPLC

2.3 การศึกษาบรรจุภัณฑ์และการศึกษาความคงสภาพของตำรับ

บรรจุภัณฑ์มีความสำคัญต่อความคงสภาพของยา โดยการเลือกบรรจุภัณฑ์ต้องคำนึงถึงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของตำรับ เช่น ความไวต่อความชื้น แสง อากาศ โดยบรรจุภัณฑ์ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบในตำรับ ยาเม็ดโซเดียมวาลโปรเอทในรูปแบบเคลือบเอนเทอร์ิก ตัวยามีคุณสมบัติที่ไวต่อความชื้น ดังนั้นควรเลือกบรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของน้ำจากภายนอกเข้าไปสัมผัสกับเม็ดยาได้ดี

บรรจุภัณฑ์ที่ศึกษาได้แก่ ขวดแก้วสีชาและแผงสตรีป ดังนี้

1. ขวดแก้วสีชาขนาด 100 มิลลิลิตร ฝาอลูมิเนียมบรรจุเม็ดยาจำนวน 100 เม็ด และใส่ซิลิกาเจลน้ำหนัก 15 กรัม

2. แผงสตรีป (Strip foil) บรรจุเม็ดยาลงแผงด้วยเครื่องบรรจุแผงสตรีป แผงละ 10 เม็ดและต้องทดสอบการรั่วของแผงยาเมื่อเริ่มบรรจุเพื่อให้มั่นใจว่าการบรรจุด้วยเครื่องบรรจุแผงสตรีป อลูมิเนียมพอยล์ปิดสนิท ไม่มีการรั่วของแผงยา โดยหลังการทดสอบแผงยาต้องปิดสนิทและเมื่อตัดแผงยาออกไม่พบน้ำสีติดบนเม็ดยาจึงจะนำไปทดสอบต่อไป

โดยนำตำรับยาเตรียม 5 ตำรับที่ปริมาณพอลิเมอร์ร้อยละ 6 และ 7.5 ของน้ำหนักเม็ดยา บรรจุในขวดแก้วสีชาและแผงสตรีป หลังจากนั้นทำการเก็บเพื่อศึกษาความคงสภาพของยาใน 2 สภาวะ ได้แก่

1. การศึกษาความคงสภาพในสภาวะเร่ง เก็บที่อุณหภูมิ $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 เป็นเวลา 6 เดือน โดยศึกษาที่เวลา 0, 2 และ 6 เดือน

2. การศึกษาความคงสภาพในระยะยาว เก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 เดือน โดยศึกษาที่เวลา 0, 4, 9 และ 12 เดือน

โดยเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนด ทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของยา ได้แก่ ลักษณะภายนอกของเม็ดยา, ความแข็งของเม็ดยา, ความหนาของเม็ดยา, ความชื้นของยา, ความสม่ำเสมอของตัวยาสำคัญ, การหาปริมาณตัวยาสำคัญ, การแตกตัวของยาและการละลายของยา เพื่อประเมินความคงสภาพของตำรับยา ตามที่ได้กำหนดในหัวข้อที่ 9.1, 9.2, 9.3, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8 และ 9.9 ตามลำดับ