

บทที่ 1

บทนำ

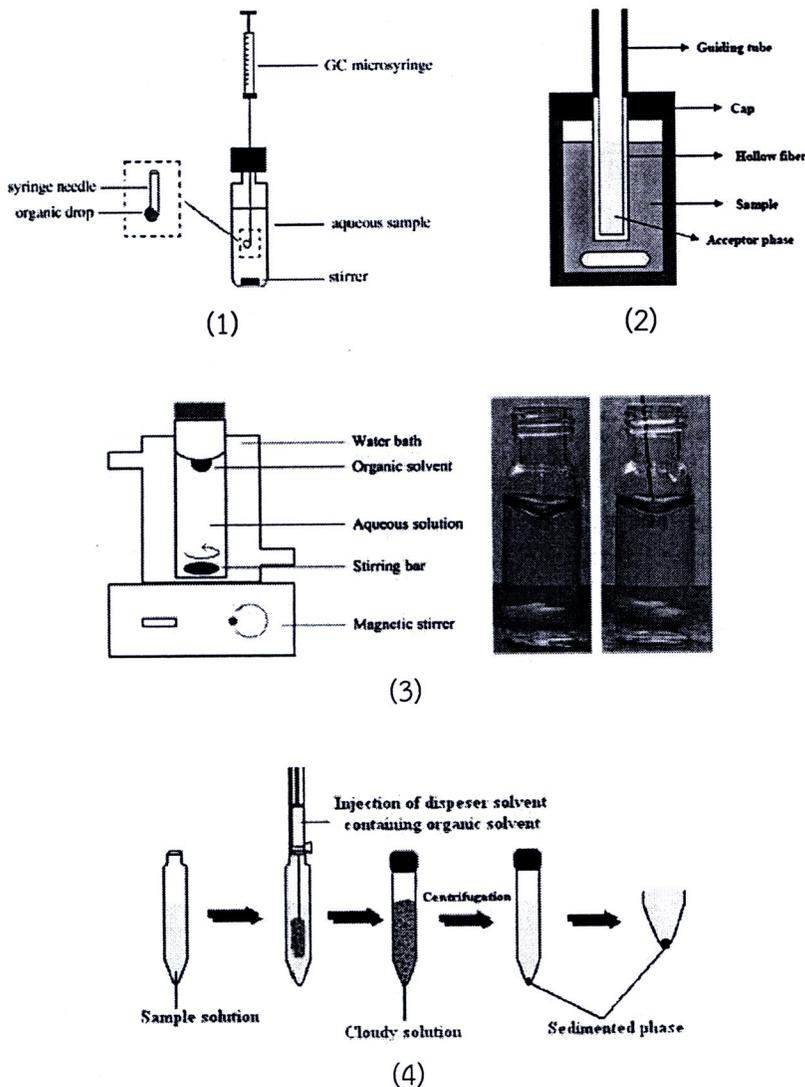
1. ที่มาและปัญหาของการวิจัย

การสกัดเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปวิเคราะห์ เนื่องจากเป็นการแยกสารที่สนใจออกจากสารอื่นๆ ซึ่งปนอยู่ในตัวอย่างและอาจส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ นอกจากนี้ในบางกรณียังช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสารก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ (pre-concentration) อีกด้วย จากอดีตจนถึงปัจจุบันการสกัดด้วยตัวทำละลายของเหลว (liquid-liquid extraction) เป็นเทคนิคที่ยังนิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากทำได้ง่าย มีประสิทธิภาพ และใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ไม่ซับซ้อนและมีราคาถูก เช่น เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดบนวัฏภาคของแข็ง (solid-phase extraction) ซึ่งแม้จะว่าเป็นวิธีที่ใหม่กว่าและใช้ตัวทำละลายน้อยกว่า แต่ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากผู้วิเคราะห์ต้องซื้อหาคอลัมน์สำหรับการแยกจากผู้ผลิต ในปัจจุบันตำราฯทั้ง The United States Pharmacopeia (USP) [1] และ British Pharmacopoeia (BP) [2] ยังคงระบุให้ใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาในหลายตำรับ เช่น การวิเคราะห์ปริมาณยาในกลุ่ม Salts of organic nitrogenous bases เช่น chlorpheniramine maleate และ brompheniramine maleate ในรูปยาเม็ดและยาน้ำ หรือการวิเคราะห์ปริมาณยากลุ่ม corticosteroids เช่น Hydrocortisone acetate cream, Beclomethasone cream โดยทำการสกัดตัวยาวด้วย methanol/hexane ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC)

อย่างไรก็ตาม การสกัดด้วยตัวทำละลายของเหลว มีข้อเสียหรือข้อจำกัด ได้แก่ มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่มักเป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อมในปริมาณมาก เนื่องจากทำการสกัดในกรวยแยก (separatory funnels) หรือภาชนะขนาดใหญ่ และหากประสิทธิภาพของการสกัดไม่ดีพอ ก็อาจจะต้องทำการสกัดซ้ำหลายครั้ง ทำให้ผู้ปฏิบัติงานมีโอกาสสัมผัสกับตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านั้นเพิ่มขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการสัมผัสทางผิวหนังหรือการสูดดม นอกจากนี้เมื่อเสร็จสิ้นการวิเคราะห์ก็จะมีของเสียประเภทตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากเกิดขึ้นตามมา ซึ่งเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายในการจัดการของเสียประเภทนี้ ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์หาปริมาณยาในกลุ่ม Salts of organic nitrogenous bases หรือ Brompheniramine maleate oral solution ตามตำราฯ USP ต้องใช้ ether หรือ chloroform อย่างน้อย 120 – 240 mL ต่อการวิเคราะห์หนึ่งตัวอย่าง ดังนั้นการปรับปรุงกระบวนการสกัดให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งปลอดภัยมากขึ้น และใช้ในปริมาณลดลง จะช่วยแก้ปัญหานี้ได้อย่างสอดคล้องกับหลักเคมีสีเขียว [3]

จากการทบทวนงานวิจัยพบว่า แม้ในปัจจุบันจะมีเทคนิคใหม่ ซึ่งเรียกว่า “microextraction” เพื่อทำให้กระบวนการสกัดใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่น้อยลงเกิดขึ้นในรูปแบบต่างๆ เช่น single-drop microextraction (SDME) [4-7], hollow-fiber microextraction (HF-LPME) [8-10], directly-suspended droplet microextraction (DSDME) [11-13] และ dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) [14-17] (รูปที่ 1) แต่เทคนิคดังกล่าวก็ยังมีข้อจำกัดอยู่บางประการ เช่น ในกรณีของ SDME หรือ DSDME ตัวหยดขนาดเล็ก (microdrop) ของตัวทำละลายมักไม่เสถียร อันเนื่องมาจากแรง

โน้มถ่วงหรือแรง shear ที่เกิดขึ้นภายในสารละลายขณะที่ทำการปั่นหรือคนด้วยความเร็ว ทำให้หยดดังกล่าวมีโอกาสหลุดออกจากปลายเข็มของ microsyringe ในกรณีของ HF ก็มักประสบปัญหาการเกิดฟองอากาศ หรือมีสารชนิด hydrophobic เกาะติดอยู่บนผิวของเมมเบรน ทำให้ประสิทธิภาพในการที่สารจะเคลื่อนที่ผ่านชั้นเมมเบรนและส่งผลไปถึงประสิทธิภาพในการสกัดลดลงเมื่อทำการสกัดไปเรื่อยๆ ส่วนเทคนิค DLLME มีข้อเสียเนื่องจากต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อย่างน้อยถึง 2 ชนิดที่เข้ากันได้ (miscible) ทำหน้าที่เป็น extraction solvent หนึ่งชนิด และ disperser solvent อีกหนึ่งชนิด เช่น ใช้ chloroform ร่วมกับ methanol เป็นต้น [18,19] นอกจากนี้เทคนิค microextraction ที่ได้มีรายงานมาทั้งหมด ยังคงใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม โดยส่วนใหญ่ยังคงใช้ chloroform และ carbon tetrachloride ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย เป็นสารก่อมะเร็ง และทำลายชั้นโอโซนของบรรยากาศโลก รวมถึงการตรวจวัดปริมาณสารที่สกัดได้ ยังคงทำในขณะที่สารที่สนใจยังละลายอยู่ในวัฏภาคตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าว ทำให้ผู้ปฏิบัติงานมีโอกาสสัมผัสกับตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านั้น



รูปที่ 1 เทคนิค liquid microextraction แบบ single-drop microextraction (1), hollow-fiber microextraction (2), directly-suspended droplet microextraction (3) และ dispersive liquid-liquid microextraction (4) [19]

การสกัดสารโดยอาศัยหลักการเกิดคู่อไอออน (ion-pair extraction) ระหว่างสารที่สนใจกับสีย้อมที่มีประจุ เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีประสิทธิภาพดีในการสกัด และให้ชั้นของสารสกัดซึ่งมีสีพร้อมที่จะนำไปวิเคราะห์ได้โดยตรงด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี วิธีนี้ใช้ในการวิเคราะห์ cationic surfactant เช่น cetrimide และตัวยาบางชนิด เช่น Clonidine injection ตามที่ระบุไว้ในตำรายา BP ส่วนในงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการ พบว่า มีรายงานหลายฉบับที่พัฒนาและใช้การสกัดโดยอาศัยหลักการเกิดคู่อไอออน (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม งานวิจัยทั้งหมดเป็นการสกัดในสเกลขนาดใหญ่ตามแบบดั้งเดิม โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นพิษสูง ได้แก่ chloroform ในปริมาตรไม่ต่ำกว่า 5 mL อีกทั้งยังใช้วิธีวัดความเข้มข้นหรือค่าการดูดกลืนแสงในภูมิภาคตัวทำละลายอินทรีย์ จึงเพิ่มโอกาสที่ผู้ปฏิบัติงานจะสัมผัสหรือได้รับอันตรายจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้นั้น ทั้งในขั้นตอนการเจือจางสารก่อนนำไปวัด และระหว่างการวัดค่าการดูดกลืนแสง เป็นต้น

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของการสกัดโดยอาศัยหลักการเกิดคู่อไอออนที่มีรายงานในวารสารวิชาการ

ตัวยาที่วิเคราะห์	ชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้	ปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ (mL)	ภูมิภาคที่ใช้วัดค่าการดูดกลืนแสง	ผู้วิจัย
Amprolium	Chloroform	20	Organic phase	Shoukry et al. [20]
Terbinafine	Chloroform	50	Organic phase	Florea et al. [21]
Pioglitazone	Chloroform	10	Organic phase	Amanlou et al. [22]
Cetirizine	Chloroform	10	Organic phase	Ulu [23]
Fluoroquinolone drugs	Chloroform หรือ methylene chloride	5 หรือ 10	Organic phase	Amin et al. [24]
Lamotrigine	Dichloromethane	10	มีทั้ง 2 แบบ ใน Organic หรือ aqueous phase	Rajendraprasad et al. [25]

หมายเหตุ chloroform จัดอยู่ในกลุ่ม possible carcinogen และ dichloromethane จัดอยู่ในกลุ่ม harmful และ suspected carcinogen [26]

จากปัญหาและข้อจำกัดของการสกัดที่กล่าวมา งานวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณยา (โดยใช้คลอเฟนิรามีนมาลีเอตเป็น model drug) โดยใช้การสกัดแบบคู่อไอออนในสเกลขนาดเล็ก (ปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์น้อยกว่า 1 mL) โดยใช้หลอดขนาดเล็กสำหรับปั่นเหวี่ยง (microcentrifuge tubes) เป็นภาชนะและอุปกรณ์ในการสกัด เพื่อทำให้เกิดความสะดวกในการผสมหรือเขย่าสารด้วยวิธี vortex mixing ไปจนถึงการแยกชั้นระหว่างภูมิภาคโดยวิธีปั่นเหวี่ยงด้วย bench top centrifuge ได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ *n*-butyl acetate ซึ่งมีความปลอดภัยมากกว่า chloroform และไม่จัดเป็น “ozone-depleting solvent” รวมถึง “dangerous to the environment substance” เป็นตัวทำละลายในการสกัด จากนั้นทำการตรวจวัดสีหลังจากที่ได้ทำการ back extraction ให้คู่อไอออนที่สนใจกลับมาอยู่ในชั้นน้ำ ซึ่งปลอดภัยกว่าและระเหยได้น้อยกว่าภูมิภาคตัวทำละลายอินทรีย์ โดยใช้ drop-based microvolume spectrophotometer เพื่อให้ได้วิธีการที่มีความ

ใหม่ในด้านการผสมผสานและบูรณาการหลักเคมีสีเขียว เข้ากับทุกขั้นตอนของกระบวนการวิเคราะห์ เนื่องจากยังไม่พบรายงานวิธีวิเคราะห์โดยการสกัดแบบเกิดคู่ออนสำหรับยาคลอเฟนิรามีนมาลีเอต ซึ่งทำในสเกลขนาดเล็ก โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นต้องสามารถทำได้ง่าย มีประสิทธิภาพ (analytical performance) ประหยัดสาร เกิดของเสียน้อย ปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังคาดหวังว่า ผลงานวิจัยเรื่องนี้จะ เป็นต้นแบบที่ดีให้กับผู้ที่ทำงานด้านเภสัชวิเคราะห์และเคมีวิเคราะห์ ได้เห็นถึงแนวทางการออกแบบและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ยา โดยคำนึงถึงความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อันจะนำไปสู่การพัฒนาและสังคมที่ยั่งยืน

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณคลอเฟนิรามีนมาลีเอตโดยใช้การสกัดแบบคู่ออน ร่วมกับเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี และทำในสเกลขนาดเล็ก ให้มีประสิทธิภาพ ประหยัดสาร เกิดของเสียน้อย ปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม
2. เพื่อเป็นต้นแบบให้กับผู้ที่ทำงานด้านเภสัชวิเคราะห์และเคมีวิเคราะห์ ได้เห็นถึงแนวทางการออกแบบและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ยา โดยคำนึงถึงความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อันจะนำไปสู่การพัฒนาและสังคมที่ยั่งยืน