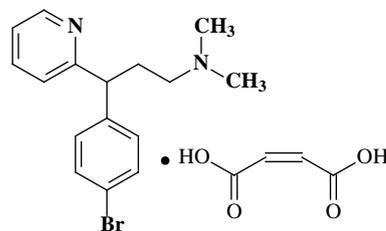
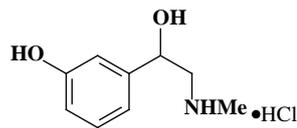


## บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เฟนิลเอพรีนไฮโดรคลอไรด์ เป็นยาที่นำมาใช้บรรเทาอาการคัดจมูกในรูปแบบต่างๆ เช่น ยาเม็ด ยาแคปซูล ยาน้ำเชื่อม ยาหยอดจมูก ยาพ่นจมูก ทั้งเป็นยาเดี่ยวและยาสูตรผสม มีรายงานการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ยาเฟนิลเอพรีนไฮโดรคลอไรด์ โดยใช้เทคนิคและวิธีการหลากหลาย เช่น การวิเคราะห์ด้วยวิธี UV spectrophotometry (Ahmed and Amin, 2007:84-87; Collado and Others, 2000:909-920 ; Erk, 2000 : 1023-1031; Khoshayand and Others, 2010:311-318; Rocha and Others, 2002:875-8; Savic and Others, 2008:261-264; Shama, 2002:150-155) การวิเคราะห์ด้วยวิธี spectrofluorometry (Juan and Others, 2000:159-168) การวิเคราะห์ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟีได้แก่ High-performance liquid chromatography (Erk and Kartal 1998:617-622; De Beer and Others, 1994:1379-1389; Galmier and Others, 2000:202-204; Marin and Others, 2002:701-714; Okamura and Others, 1999:363-372; Olmo and Others, 2005:159-165; Zhao Xue-Mei, 2005:167-168), micellar electrokinetic chromatography (Gil-Agusti and Others, 2001:621-630; Maria and Arroyo, 2003:947-952), และ capillary zone electrophoresis (Marin and Barbas, 2004:769-777; Wang and Others, 1966:295-314) เป็นต้น



Brompheniramine maleate (BPM)



Phenylephrine hydrochloride(PEH)

บรอมเฟนิรามีนมาลีเอต เป็นยาที่นำมาใช้บรรเทา น้ำมูกไหล อาการคันจากการแพ้ ในรูปแบบต่างๆ เช่น ยาเม็ด ยาแคปซูล ยาน้ำเชื่อมทั้งเป็นยาเดี่ยวและยาสูตรผสม วิธีวิเคราะห์ยาเดี่ยว บรอมเฟนิรามีนมาลีเอตในรูปแบบยาเม็ดมีอยู่ในเภสัชตำรับต่างๆ เช่น USP, BP เป็นต้น นอกจากนี้ มีการพัฒนาวิเคราะห์ยาบรอมเฟนิรามีนมาลีเอตโดยใช้เทคนิคและวิธีการอื่นๆ เช่น gas-liquid chromatography (Robert and Others, 1968: 1246-1250 ) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ยาสูตรผสมที่มีตัวยา 2 ชนิด คือ เฟนิลเอพรีนไฮโดรคลอไรด์และบรอมเฟนิรามีนมาลีเอตเป็นองค์ประกอบ ตัวอย่างเม็ดสูตรผสมที่มีจำหน่ายในประเทศไทยได้แก่ meditapp® tablet (บรอมเฟนิรามีนมาลีเอต/เฟนิลเอพรีนไฮโดรคลอไรด์ 4/7.5 มิลลิกรัม) nartap® (บรอมเฟนิรามีนมาลีเอต/เฟนิลเอพรีนไฮโดรคลอไรด์ 4/7.5 มิลลิกรัม) bromped® (บรอมเฟนิรามีนมาลีเอต/เฟนิล

เอพรินไฮโดรคลอไรด์ 4/5) มิลลิกรัม bepeno® (บรอมเฟนิรามีนมาลีเอต/เฟนิลเอพรินไฮโดรคลอไรด์ 4/10 มิลลิกรัม) asiatapp extentab® (บรอมเฟนิรามีนมาลีเอต/เฟนิลเอพรินไฮโดรคลอไรด์ 12/15 มิลลิกรัม) nasotapp® (บรอมเฟนิรามีนมาลีเอต/เฟนิลเอพรินไฮโดรคลอไรด์ 4/10 มิลลิกรัม) เป็นต้น

## 2.1 การวิเคราะห์โดยวิธีอัลตราไวโอเลตสเปกโทรสโกปี

เทคนิคการวิเคราะห์โดยวิธีอัลตราไวโอเลตสเปกโทรสโกปี เป็นวิธีที่ใช้คุณสมบัติการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตของสารตัวอย่างมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารซึ่งจะใช้ได้ผลดีกับสารเดี่ยวหรือสารผสมที่สเปกตรัมการดูดกลืนแสงไม่ซ้อนทับกัน อย่างไรก็ตามการแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงหรือสเปกตรัมอันดับศูนย์ไปเป็นสเปกตรัมอันดับหนึ่งอันดับสองหรือสูงกว่า อาจจะทำให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารผสมได้โดยไม่ต้องแยกสารออกจากกัน การแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงไปเป็นสเปกตรัมอันดับต่างๆ สามารถทำได้ง่ายโดยใช้ซอฟต์แวร์พื้นฐานที่มีให้มาพร้อมกับเครื่องอัลตราไวโอเลตสเปกโทรมิเตอร์ สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่ง เป็นสเปกตรัมที่ได้จากการความสัมพันธ์ระหว่าง อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมการดูดกลืนแสง เทียบกับอัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น ( $dA/d\lambda$ ) ซึ่งความยาวคลื่นที่ความชันสูงสุดและความชันต่ำสุดจะเป็นค่าที่มีแอมพลิจูดสูงสุดและต่ำสุดตามลำดับ และความยาวคลื่นที่มีความชันเป็นศูนย์ จะเป็นจุดตัดบนแกน X เรียกว่าจุดข้ามศูนย์ (zero-crossing point) ของสเปกตรัมอนุพันธ์ ข้อดีของสเปกตรัมอนุพันธ์ คือ สามารถระบุค่า  $\lambda_{max}$  ได้ถูกต้องกว่าให้รายละเอียดของสเปกตรัมมากกว่าและสามารถแยกแถบการดูดกลืนแสงที่ซ้อนทับกันได้ดีกว่า จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้วิเคราะห์สารผสมหรือยาสูตรผสมได้ดี (Balyejjusa and Adome, 2002:56-63; Kazemipour and Ansari, 2004:147-153; Pomykalski and Hopkala, 2005:171-176; Rajmane and Others, 2009:184-10) อย่างไรก็ตามสเปกตรัมอนุพันธ์จะมีความเข้มลดลงและสัญญาณรบกวนมากขึ้นโดยเฉพาะสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสูงๆ

## 2.2 การวิเคราะห์โดยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในทางเภสัชศาสตร์นิยมใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของยาหรือสารประกอบยา หรือเพื่อช่วยหาสูตรโครงสร้างเคมี ในการใช้อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณยา ยังมีรายงานค่อนข้างน้อยเนื่องจากปัญหาในด้านเทคนิคการใช้เครื่องมือ เช่น เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ไวต่อความชื้น การเตรียมสารตัวอย่างและการควบคุม path length ให้คงที่ยาก เป็นต้น อย่างไรก็ตามปัจจุบันมีการใช้อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีร่วมกับหลักการทางคณิตศาสตร์และสถิติมาช่วยวิเคราะห์สเปกตรัมที่เรียกว่าเค

โม่เมทริกส์ (chemometrics) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารผสมหรือยาผสมโดยไม่ต้องแยกออกจากกัน (Rohman and Che Man. 2009:717-721; Wojciechowski and Others. 1998:133-140 ; Yan-Wen Wu and Others. 2008 : 498-504)

### 2.3 การวิเคราะห์โดยวิธีรงคเลขผิวบางประสิทธิภาพสูง

การวิเคราะห์โดยวิธีรงคเลขผิวบางประสิทธิภาพสูงเป็นการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการแยกสารออกจากกันบนแผ่นรงคเลขที่เคลือบด้วยตัวดูดซับผนวกกับเครื่อง tlc scanner หรือ densitometer ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ช่วยวิเคราะห์หาปริมาณสาร ทำให้สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ดี มีการนำเทคนิคการวิเคราะห์โดยวิธีรงคเลขผิวบางประสิทธิภาพสูงมาประยุกต์ในการวิเคราะห์สารจากธรรมชาติและสมุนไพรต่างๆที่มีองค์ประกอบของสารที่ต้องการวิเคราะห์หลายชนิด (Agarwal and Others. 2007:841-844; Dhandapani and Others. 2009:139-141; Sasikumar and Others. 2010:130-132)

### 2.4 การวิเคราะห์สารที่มีองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์หลายชนิด (Multicomponent analysis)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารผสมที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์มากกว่า 1 ชนิด หรือมีสารเจือปนผสมอยู่ จะต้องแยกสารออกจากกันก่อนทำการวิเคราะห์ หรืออาจจะวิเคราะห์ได้โดยตรงด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีได้โดยที่สเปกตรัมของสารที่ต้องการวิเคราะห์ไม่ซ้อนทับกัน แต่ถ้าสเปกตรัมของสารที่ต้องการวิเคราะห์ซ้อนทับกันอาจจะใช้หลักการของสเปกโทรสโกปีเชิงอนุพันธ์ช่วยในการวิเคราะห์โดยไม่ต้องแยกสารออกจากกัน นอกจากนี้ปัจจุบันมีการพัฒนาซอฟต์แวร์ที่ใช้หลักการทางคณิตศาสตร์และสถิติมาใช้ช่วยวิเคราะห์สเปกตรัมของสารที่มีความซับซ้อนซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ร่วมกับเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีในการวิเคราะห์สารผสมโดยไม่ต้องแยกสารออกจากกัน เช่น วิธีการเทียบมาตรฐานหลายตัวแปร (Multivariate calibration)

#### 2.4.1 การเทียบมาตรฐานหลายตัวแปร

ในการวัดการดูดกลืนแสงของสารผสม สเปกตรัมที่ได้มักจะมีการซ้อนทับกัน ทำให้ไม่สามารถเลือกความยาวคลื่นค่าใดค่าหนึ่งที่เหมาะสมในการเทียบมาตรฐาน วิธีการเทียบมาตรฐานหลายตัวแปรเป็นการวัดความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างพร้อมกันหลายความยาวคลื่น การใช้ค่าดูดกลืนแสงหลายความยาวคลื่นในการเทียบมาตรฐานสามารถทำได้ง่ายเนื่องจากมีซอฟต์แวร์และคอมพิวเตอร์ที่มีประสิทธิภาพสูง การนำวิธีการเทียบมาตรฐานหลายตัวแปรมาประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารผสม ช่วยลดสัญญาณรบกวนของเครื่องมือและสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารผสมได้โดยไม่ต้องแยกสารออกจากกัน วิธีการทางสถิติที่นำมาประยุกต์ใช้ใน

การสร้างแบบจำลองเทียบมาตรฐานหลายตัวแปรมีหลายวิธี เช่น classical least squares (CLS) multiple least squares regression (MLR), principal component regression (PCR) และ partial least square regression (PLS) เป็นต้น

### Classical least squares (CLS)

วิธีการนี้เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า K matrix (Smith, BC. 2002:106-109) เป็นวิธีการหาค่าคงที่ K จากกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต ที่หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารกับความเข้มข้น ดังสมการ

$$A = \epsilon LC$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่น  $\lambda$

$\epsilon$  = absorptivity ที่ความยาวคลื่น  $\lambda$

L = path length

C = ความเข้มข้นของสาร

ในการวัดค่าดูดกลืนแสงของสารใดๆ โดยใช้เครื่องมือเครื่องเดิม ค่า  $\epsilon$  และ L จะคงที่ ดังนั้น

$$A = KC$$

โดยที่  $K = \epsilon L$

ในกรณีที่สารตัวอย่างมีองค์ประกอบที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ มากกว่า 1 ชนิด ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเกิดจากค่าดูดกลืนแสงของแต่ละองค์ประกอบรวมกัน เช่น ถ้าสารตัวอย่างมี 3 องค์ประกอบ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นใดๆ จะเป็นดังนี้

$$A_t = Ax + Ay + Az$$

$A_t$  = ค่าการดูดกลืนแสงรวมที่ความยาวคลื่นใดๆ

$A_x$  = ค่าการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบ x ที่ความยาวคลื่นใดๆ

$A_y$  = ค่าการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบ y ที่ความยาวคลื่นใดๆ

$A_z$  = ค่าการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบ z ที่ความยาวคลื่นใดๆ

หรือ

$$A_t = \epsilon_x LC_x + \epsilon_y LC_y + \epsilon_z LC_z$$

ในที่นี้การหาความเข้มข้นของแต่ละองค์ประกอบต้องใช้ 3 สมการ โดยวัดการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างอย่างน้อย 3 ความยาวคลื่น

$$A_1 = \epsilon_{1x}LC_x + \epsilon_{1y}LC_y + \epsilon_{1z}LC_z$$

$$A_2 = \epsilon_{2x}LC_x + \epsilon_{2y}LC_y + \epsilon_{2z}LC_z$$

$$A_3 = \epsilon_{3x}LC_x + \epsilon_{3y}LC_y + \epsilon_{3z}LC_z$$

จากสมการทั้ง 3 สามารถนำไปใช้คำนวณหาค่าความเข้มข้นขององค์ประกอบทั้ง 3 ชนิดได้เรียกว่า simultaneous equations

ในการแก้สมการทั้ง 3 สมการ อาจจะใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า matrix ช่วยในการคำนวณ ดังนี้

$$A = \begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \\ A_3 \end{bmatrix}$$

$$E = \begin{bmatrix} \epsilon_{1x} & \epsilon_{1y} & \epsilon_{1z} \\ \epsilon_{2x} & \epsilon_{2y} & \epsilon_{2z} \\ \epsilon_{3x} & \epsilon_{3y} & \epsilon_{3z} \end{bmatrix}$$

$$C = \begin{bmatrix} C_x \\ C_y \\ C_z \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \\ A_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \epsilon_{1x} & \epsilon_{1y} & \epsilon_{1z} \\ \epsilon_{2x} & \epsilon_{2y} & \epsilon_{2z} \\ \epsilon_{3x} & \epsilon_{3y} & \epsilon_{3z} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} L \\ L \\ L \end{bmatrix} \begin{bmatrix} C_x \\ C_y \\ C_z \end{bmatrix}$$

$$A = ELC$$

A = matrix ของค่าดูดกลืนแสง

E = matrix ของค่า absorptivity

L = matrix ของ pathlength

C = matrix ของ ความเข้มข้น

เมื่อ E และ L มีค่าคงที่ สมมติมีค่าเป็น K

ดังนั้น  $K = EL$

$$A = KC$$

$$K = AC^{-1}$$

$C^{-1}$  = inverse ของ matrix ของ ความเข้มข้น

$$K = AC^T(CC^T)^{-1}$$

$C^T$  = matrix transpose ของ ความเข้มข้น

เมื่หาค่า  $K$  ได้ ก็สามารถหาค่าความเข้มข้นได้ ดังนี้

$$C_{\text{unk}} = (K^TK)^{-1}K^T A_{\text{unk}}$$

$K^T$  = matrix transpose ของ  $K$

$C_{\text{unk}}$  = ความเข้มข้นขององค์ประกอบในสารตัวอย่าง

$A_{\text{unk}}$  = ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

ข้อดีของ CLS คือ การคำนวณไม่ยุ่งยาก ไม่ต้องเลือกความยาวคลื่นในการเทียบมาตรฐาน แต่จำนวนความยาวคลื่นต้องมากกว่าจำนวนองค์ประกอบที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ การใช้ความยาวคลื่นจำนวนมากจะช่วยลดสัญญาณรบกวนของสเปกตรัม

ข้อจำกัดของ CLS คือจำเป็นต้องรู้ความเข้มข้นขององค์ประกอบทุกตัวในสารตัวอย่าง นอกจากนี้สเปกตรัมที่ได้จะต้องไม่มีผลของ baseline drift

### Multiple least squares regression (MLR)

วิธีการนี้อาจจะเรียกว่า inverse least squares หรือ P matrix (Smith, BC. 2002:110-124) ซึ่งถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อแก้ไขข้อจำกัดของวิธี CLS ที่จำเป็นต้องรู้ความเข้มข้นของทุกองค์ประกอบในสารตัวอย่างจึงจะตรวจวิเคราะห์ได้ วิธี MLR สามารถใช้ได้โดยไม่ต้องรู้ความเข้มข้นของทุกองค์ประกอบในสารตัวอย่าง ดังนี้

$$A = ELC$$

$$C = A(EL)^{-1}$$

กำหนดให้  $P = (EL)^{-1}$

เพราะฉะนั้น  $C = PA$

$$P = CA^{-1}$$

$$P = CA^T(AA^T)^{-1}$$

เมื่อทราบ ค่า P สามารถคำนวณค่า C ได้

ข้อดีของ MLR คือ การคำนวณไม่ยุ่งยาก ไม่จำเป็นต้องรู้ความเข้มข้นขององค์ประกอบ  
ทุกตัวในสารตัวอย่างก็สามารถสร้างแบบจำลองเทียบมาตรฐานได้

ข้อจำกัดของ MLR คือ จำนวนความยาวคลื่นที่ใช้ต้องมากกว่าจำนวนสารตัวอย่างที่จะ  
ตรวจวิเคราะห์ ต้องเลือกความยาวคลื่นที่เหมาะสม และหลีกเลี่ยงการเกิด collinearity นอกจากนี้  
จำนวนสารตัวอย่างจะต้องมากพอ เพื่อให้ผลการสร้างแบบจำลองมีความถูกต้องสูง

### Principal component regression (PCR)

วิธีการนี้ใช้หลักการของการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal components  
analysis) ร่วมกับการวิเคราะห์การถดถอย (regression analysis) (Smith, BC. 2002:125-138) โดย  
เริ่มต้นจากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักจากข้อมูลของสารตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งจะได้ matrix ของ  
scores ในแต่ละ principal components (PC) หรือ factors ดังสมการ

$$A = SF$$

A = matrix ของค่าการดูดกลืนแสง

S = matrix ของ scores

F = matrix ของ factors

หลังจากนั้น จะนำค่า scores ที่ได้ไปหาความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้น โดยใช้หลักการ  
วิเคราะห์การถดถอยแบบ inverse least squares

$$C = BS^T$$

C = matrix ของความเข้มข้น ขององค์ประกอบในสารตัวอย่าง ที่มีขนาด  $m \times n$

B = matrix ของ regression coefficient ที่มีขนาด  $m \times f$

$S^T$  = transpose matrix ของค่า scores ที่มีขนาด  $f \times n$

ดังนั้น สามารถหาค่า B ได้ดังนี้

$$B = C(S^T)^{-1}$$

$$B = CS^T(S^T S^T)^{-1}$$

เนื่องจาก  $S^T S^T = S$

ดังนั้น  $B = CS(S^T S)^{-1}$

S หาได้จาก  $S = AF^{-1}$

เนื่องจาก  $F$  เป็น orthogonal matrix ดังนั้น  $FF^T = I$  เพราะฉะนั้น  $F^{-1} = F^T$

$$\text{ดังนั้น} \quad S = AF^T$$

และ  $C$  แปรผันโดยตรงกับ  $S^T$

$$S^T = (AF^T)^T$$

$$S^T = FA^T$$

$$C = BFA^T$$

ข้อดีของ PCR คือไม่จำเป็นต้องเลือกช่วงสเปกตรัม สามารถใช้ตลอดช่วงความยาวคลื่น การใช้ค่าการดูดกลืนแสงจำนวนมากจะช่วยลดสัญญาณรบกวน หลักการของ PCR จะสร้างแบบจำลองเทียบมาตรฐานเฉพาะองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งสามารถใช้ได้กับสารตัวอย่างที่มีองค์ประกอบจำนวนมาก เพียงแต่ต้องรู้องค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์เท่านั้น

ข้อจำกัดของ PCR คือ จะต้องใช้สารตัวอย่างจำนวนมากในการสร้างแบบจำลองเทียบมาตรฐาน และการคำนวณยุ่งยากจำเป็นต้องใช้ซอฟต์แวร์ช่วยในการคำนวณ

### **Partial least square regression (PLS)**

วิธีการสร้างแบบจำลองการเทียบมาตรฐานของ PLS คล้ายกับ PCR ต่างกันที่ PLS จะมีการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของข้อมูล พร้อมกับวิเคราะห์การถดถอยในขั้นตอนเดียวกัน