บทคัดย่อ

แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสสองวิธีได้รับการพัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ยาเมทฟอร์มินและกลัยคาไซด์ และสารสลายตัวที่เกิดขึ้นจากยาทั้งสองชนิดนี้ ได้แก่ ไซยาโนกัวนิดีน สารเจือปนกลัยคาไซด์บี และเอฟ จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ยาเมทฟอร์มินและไซยาโนกัวนิดีน คือ ซิเตรตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ที่พีเอช 6.7 แคปิลลารียาว 60 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 50 ไมโครเมตร ฉีดสารด้วยแรงดัน 50 มิลลิบาร์ 5 วินาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 15 กิโลโวลล์ ตรวจหาการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 214 นาโนเมตร สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ยากลัยคาไซด์ และสารเจือปนกลัยคาไซด์บี และเอฟ ได้แก่ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ซึ่งประกอบด้วย15 มิลลิโมลาร์ โซเดียมโดเดซิล ซัลเฟต ที่พีเอช 7.0 แคปิลลารียาว 40 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 50 ไมโครเมตร ฉีดสารด้วยแรงดัน 50 มิลลิบาร์ 5 วินาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความต่างศักย์ไฟฟ้า ที่ 20 กิโลโวลล์ ตรวจหาการดูดกลืนรังสัอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 225 นาโนเมตร วิธีวิเคราะห์ทั้งสองได้รับการประเมินในหัวข้อความสัมพันธ์เส้นตรง ความเที่ยงตรง ความถูกต้อง สภาพไว และความทนทานของวิธี พบว่าให้ความสัมพันธ์เส้นตรง (r^2 มากกว่า 0.99) ความเที่ยงตรง (%RSDs น้อยกว่า 2.00 เปอร์เซ็นต์) และความถูกต้อง (%recovery 98.3-100.9 เปอร์เซ็นต์) ที่ดีสำหรับสารทุกชนิด ลิมิตการตรวจหาและลิมิตการวิเคราะห์ปริมาณมีค่าน้อยกว่า 40 และ100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ วิธีวิเคราะห์มีความทนทานของวิธีศึกษาจากการปรับเปลี่ยนปัจจัยบางอย่างที่มีผลต่อการแยกสารซึ่งยังคงให้ค่า %RSDs น้อยกว่า 1.76 เปอร์เซ็นต์

วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้เพื่อการศึกษาความคงสภาพของยาเมทฟอร์มินและกลัยคาไซด์ภายใต้สภาวะเครียดต่าง ๆ เช่น ไฮโดรลิซิสในสารละลายด่าง กรด หรือสารละลายที่เป็นกลาง ออกซิเดชัน และแสง พบว่าเมทฟอร์มินคงตัวในสภาวะเป็นกลางและกรด แต่ไม่คงตัวในสภาวะด่างและสภาวะออกซิเดชันและให้ไซยาโนกัวนิดีนเป็นสารสลายตัว อัตราการสลายตัวของเมฟอร์มินจะยิ่งเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้ความร้อนหรือโดนแสง สำหรับกลัยคาไซด์มีความคงสภาพดีในสภาวะด่าง แต่สลายตัวอย่างรวดเร็วในสภาวะที่เป็นกลางและกรด และในสภาวะออกซิเดชัน ซึ่งสลายตัวเป็นสารเจือปนกลัยคาไซด์บี นอกจากนี้วิธีนี้ยังสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์วัตถุดิบทางยาและยาเม็ดสำเร็จรูปของตัวยาทั้งสองชนิด ซึ่งพบว่าจากตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมดมีปริมาณยาในช่วง 99.1-100.2 เปอร์เซ็นต์ (%RSDs น้อยกว่า 0.95 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดในตำรายา และตรวจไม่พบสารสลายตัวใด ๆ ในตัวอย่างที่วิเคราะห์

ABSTRACT

Two capillary electrophoresis (CE) methods were developed as stability indicating methods for metformin (MET) and gliclazide (GCZ). The optimum CE condition for the separation of MET and its degradation product (cyanoguanidine, CGN) was in 40 mM citrate buffer (pH 6.7) using a fused-silica capillary with an effective length of 60 cm and an inner diameter of 50 µm, injection at 50 mbar for 5 s, temperature of 30 ºC, applied voltage of 15 kV and diode array detection (DAD) at 214 nm. MET and CGN were well separated under these conditions with the migration times of 9.9 and 19.0 min, respectively, and a resolution (R_s) of 38.9. GCZ and its major degradation products (gliclazide impurity B, GCZ-B and gliclazide impurity F, GCZ-F) could be resolved in 10 mM phosphate buffer (pH 7.0) containing 15 mM sodium dodecyl sulfate using a fused-silica capillary with an effective length of 40 cm and an inner diameter of 50 µm, injection at 50 mbar for 5 s, temperature of 25 ºC, applied voltage of 20 kV and DAD detection at 225 nm. GCZ-B, GCZ-F and GCZ migrated at 3.82, 5.21 and 5.32 min, respectively with R_s of 11.52 (GCZ-B/GCZ-F) and 2.06 (GCZ-F/GCZ). Method validation showed good linearity (r^2 > 0.99), precision (%RSDs < 2.00%) and accuracy (%recovery between 98.3 and 100.9%) for all compounds. Limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) were of less than 40 and 100 µg/mL, respectively. The methods were robust upon alteration of factors affecting their separation with %RSDs of less than 1.76%.

The proposed CE methods could be used as stability indicating and assay methods for MET and GCZ. Stability study of MET and GCZ were performed under hydrolysis (acid, base and neutral conditions), oxidation and photolysis condition. MET was stable in neutral (water) and acid (0.1 N HCl) hydrolysis, but degraded to CGN under alkaline hydrolysis (0.1 N NaOH) and oxidation (3% H_2O_2). Elevated temperature and exposure of MET to sunlight accelerated the degradation of MET. In contrast to MET, CGZ was stable under alkaline hydrolysis and rapidly degraded to GCZ-B under acid and neutral hydrolysis and oxidation. Applications of the methods for assays of MET and GCZ in raw material and commercial tablets revealed that content of the drugs in all samples (%labeled amount between 99.1 and 100.2% with %RSDs of less than 0.95%) met requirements of pharmacopeias. No degradation products, CGN GCZ-B and GCZ-F, were observed in the investigated samples.