

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สำหรับการศึกษาความคงตัวของยาไพรอกซิแคมโดยวิธี สเปกโตรโฟโตเมตรี

ปิยเทพ บรรณวิทยกิจ¹⁾ ไพบุลย์ พิทยาธีรอนันต์¹⁾ และ รศ.ดร. ลีณา สุนทรสุข²⁾

1) ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

2) ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล* Email : pylll@mucc.mahidol.ac.th

บทคัดย่อ

โครงการนี้เป็นการพัฒนาวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไพรอกซิแคมที่เสื่อมและสารสลายตัวที่เกิดขึ้นภายใต้ภาวะเร่งในกรดและด่าง จากการศึกษาพบว่ายาไพรอกซิแคมคงตัวในด่าง แต่สลายตัวในกรดและได้สารสลายตัวที่สำคัญคือ 2-อะมิโนไพริดีน การวิเคราะห์ปริมาณสารทั้งสองตัวทำได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 360 และ 300 นาโนเมตร ตามลำดับ จากนั้นคำนวณโดยวิธี Subtraction method เปรียบเทียบกับ Binary method และประเมินวิธีพบว่ามีความสัมพันธ์เส้นตรงที่ดี ($r^2 > 0.99$) มีความแม่นยำ (%RSD < 0.11) ความถูกต้อง (%R = 97.5-103.0%) และความไวสูง วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณไพรอกซิแคมที่เสื่อมและ 2-อะมิโนไพริดีนที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวของยาไพรอกซิแคมแคปซูลในกรด โดยพบว่าผลจากการคำนวณด้วยวิธีทั้งสองไม่มีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

คำสำคัญ : ไพรอกซิแคม, 2-อะมิโนไพริดีน, Subtraction method, Binary method, สเปกโตรโฟโตเมตรี

1. บทนำ

ไพรอกซิแคมเป็นยาในกลุ่มยาต้านอาการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) (McEvoy GK และคณะ, 1996) ที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ยาดังกล่าวเสื่อมสลายตัวได้โดยกรด ด่าง ความร้อนและแสง (Klans Florey, 1986) ก่อให้เกิดสารที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค นอกจากนี้ยังอาจมีสารตั้งต้น (precursor) จากขบวนการสังเคราะห์วัตถุดิบปนเปื้อนมากับยาไพรอกซิแคม (BP, 2001) ปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดให้ผู้ผลิตเสนอข้อมูลการศึกษาความคงตัวของยาเพื่อใช้ประกอบการขึ้นทะเบียนยาซึ่งรวมถึงยาไพรอกซิแคม อย่างไรก็ตามในขณะนี้ยังไม่มีขั้นตอนที่ชัดเจนที่ผู้ผลิตจะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาความคงตัวของยาไพรอกซิแคม เนื่องจากรายงานการวิจัยจากต่างประเทศเกี่ยวกับวิธีในการวิเคราะห์ตัวยาดังกล่าวและสารสลายตัวยังมีความยุ่งยาก สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูง และต้องอาศัยเครื่องมือพิเศษที่มี

ราคาแพง เช่น ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) (Puthli SP และคณะ, 2000) และแคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (capillary electrophoresis) (Barthsch H และคณะ, 1999) ซึ่งผู้ผลิตส่วนใหญ่ในประเทศยังไม่มีเครื่องมือดังกล่าวจึงไม่สามารถนำวิธีข้างต้นมาประยุกต์ใช้ได้ โครงการนี้จึงนำเสนอการวิเคราะห์ปริมาณยาไพรอกซิแคมและสารสลายตัวโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีโดยการคำนวณปริมาณไพรอกซิแคมที่เหลืออยู่และสารสลายตัวจะใช้ 2 วิธี ดังนี้ คือ

1.1. Binary method (Fritz JS และ Schenk GH, 1987)

Binary method เป็นวิธีคำนวณปริมาณสารสองชนิดที่ผสมกันอยู่ และสารทั้งสองให้ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตสูงสุดที่ความยาวคลื่นต่างกัน แต่เมื่อ scan สเปกตรัมของสารทั้งสองพบว่าสเปกตรัมของสารต่างรบกวนค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตสูงสุดของ

กันและกัน ดังนั้นค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตสูงสุดของสารที่หนึ่งจะเป็นผลรวมของค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารที่หนึ่งรวมกับค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารที่สองที่ความยาวคลื่นเดียวกัน ในทำนองเดียวกันค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตสูงสุดของสารที่สองก็เป็นผลรวมของค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารที่สองรวมกับค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารที่หนึ่งดังแสดงในสมการที่ 1-2

$$A_{\lambda x} = A_{x\lambda x} + A_{y\lambda x} \quad (1)$$

$$A_{\lambda y} = A_{x\lambda y} + A_{y\lambda y} \quad (2)$$

เมื่อแทน Beer's law ($A = abc$) ลงในสมการที่ 1 และ 2 จะได้สมการที่ 3 และ 4 เพื่อใช้ในการคำนวณ

$$A_{\lambda x} = a_{x\lambda x}bc_x + a_{y\lambda x}bc_y \quad (3)$$

$$A_{\lambda y} = a_{x\lambda y}bc_x + a_{y\lambda y}bc_y \quad (4)$$

$A_{\lambda x}$ - ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารผสม x และ y ที่ความยาวคลื่นที่สาร x ให้การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตสูงสุด

$A_{\lambda y}$ - ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารผสม x และ y ที่ความยาวคลื่นที่สาร y ให้การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตสูงสุด

A_x และ A_y - ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสาร x และ y ตามลำดับ

λ_x และ λ_y - ความยาวคลื่นที่ให้การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตสูงสุดของสาร x และ y ตามลำดับ

a - ค่า absorptivity ($\text{dm}^3 \text{g}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b - ความกว้างของเซลล์ (1 cm)

c - ความเข้มข้นของสาร (g dm^{-3})

1.2 Subtraction method

เนื่องจากผลการทดลองยืนยันว่าสารละลายตัวของไพрокซีแคมคือ 2-อะมิโนไพรีดีนซึ่งไม่รบกวนค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นสูงสุดของไพрокซีแคมที่ 360 นาโนเมตรจึงสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณไพрокซีแคมได้ แต่ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของไพрокซีแคมรบกวนค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตสูงสุดของ 2-อะมิโนไพรีดีนที่ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตร ในการคำนวณหา

ปริมาณ 2-อะมิโนไพรีดีน จะใช้วิธี Subtraction โดยอาศัยข้อมูลจากการทดลองที่แสดงความสัมพันธ์เส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของไพрокซีแคมกับค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ 300 นาโนเมตร ในการคำนวณเปลี่ยนปริมาณไพрокซีแคมที่หาได้จากความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร กลับไปเป็นค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของไพрокซีแคมที่ 300 นาโนเมตร เพื่อใช้ในการหักลบออกจากค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารละลายผสมที่ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่แท้จริงของ 2-อะมิโนไพรีดีน ก่อนจะนำไปคำนวณในการหาปริมาณสารดังกล่าว

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 เคมีภัณฑ์ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

2.1.1 เคมีภัณฑ์ ได้แก่ สารมาตรฐานของ piroxicam และ 2-aminopyridine ตัวอย่างยาแคปซูลไพрокซีแคม สารเคมีอื่นได้แก่ hydrochloric acid (AR grade, BHD Lab, Poole, England) methanol (AR grade, Lab-Scan, Bangkok, Thailand) sodium Hydroxide (AR grade, LabGuard, Xalostoc, Mexico)

2.1.2 อุปกรณ์ ได้แก่ beaker, test tube, pipet, dropper, stirring rod, watch glass, funnel, volumetric flask, cylinder, erlenmeyer flask, evaporating dish, round bottle flask, thermometer, claisen adapter, reduction adapter, glass stopcock, heating mantle, condenser, boiling stone, clamp, stand, magnetic stirrer, magnetic bar, rubber bulb, กระดาษกรอง, กระดาษชั่งยาและช้อนชา

2.1.3 เครื่องมือ ได้แก่ pH meter (Consort C830, Turnhout, Belgium), ultrasonic bath (P Selecta, Ultrasons, USA) และ spectrophotometer (Shimadzu; UV-160A, Japan)

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณตัวอย่างยาไพрокซีแคม โดยวิธีสเปกโตรโฟเมตรี ศึกษาตัวทำลายและเวลาที่เหมาะสมในการละลายตัวยาโดยละลายสารมาตรฐาน

ไพโรอกซิแคม 10 มิลลิกรัมในเมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 โดยปริมาตร และนำไปเขย่าด้วยอัลตราโซนิกเป็นเวลา 0, 10, 15, 20 และ 25 นาที นำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานของไพโรอกซิแคมในช่วงความเข้มข้น 5 – 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการวัดการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นที่ให้การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตสูงสุด ซึ่งได้จากการ scan ในช่วง 200 – 600 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ตัวอย่างยาไพโรอกซิแคม (20 มิลลิกรัมต่อแคปซูล) ศึกษาในยา 2 ยี่ห้อ โดยสุ่มตัวอย่างยา 20 แคปซูล ซึ่งผงยาและนำไปละลายตามสภาวะข้างต้นให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและคำนวณหาปริมาณโดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน

2.2.2 การศึกษาเบื้องต้นการสลายตัวของยาไพโรอกซิแคมภายใต้สภาวะกรดและด่าง ทำโดยชั่งสารมาตรฐานไพโรอกซิแคม 10 มิลลิกรัม ใส่ round bottle flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 0.1 นอร์มัล กรดไฮโดรคลอริก หรือ 0.1 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 มิลลิลิตร reflux ที่ 100 องศาเซลเซียส จับเวลาที่ยาไพโรอกซิแคมละลายหมดเป็นเวลาเก็บตัวอย่างครั้งแรก เก็บตัวอย่างที่ได้จากการ reflux ที่เวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมง มาวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตในช่วงความยาวคลื่น 200 - 600 นาโนเมตร โดยนำตัวอย่างจำนวน 10 มิลลิลิตร มาเตรียมสารละลายต่างกัน 2 สภาวะคือ neutralized solution และ non-neutralized solution โดย neutralized solution เป็นสารละลายเจือจาง 1/10 เท่าของตัวอย่างที่ได้ภายหลังการ reflux และปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 0.1 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ 0.1 นอร์มัล กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ส่วน non-neutralized solution ไม่มีการปรับ pH ให้เป็นกลาง นำ neutralized และ non-neutralized solution ไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร

2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณยาไพโรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนในสารละลายมาตรฐานผสม (Synthetic mixture) เตรียม stock standard solution ไพโรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 0.1 นอร์มัล กรดไฮโดรคลอริก เจือจางให้มีความเข้มข้น 1/10 เท่า ปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 0.1 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์และปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่น (working standard) เตรียมสารละลายผสมไพโรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนให้มีอัตราส่วน 10:0, 7:3, 5:5, 3:7 และ 0:10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางจาก working standard นำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตและคำนวณ %recovery ของไพโรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนโดยวิธี Subtraction เปรียบเทียบกับวิธี Binary

2.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณยาไพโรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนภายหลังการ reflux ในกรดไฮโดรคลอริก ทำโดยชั่งสารมาตรฐานไพโรอกซิแคมและตัวอย่างแคปซูลให้มีเนื้อยาไพโรอกซิแคม 230 มิลลิกรัม ใส่ลงใน round bottle flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แยกกันคนละขวด เติม 0.1 นอร์มัล กรดไฮโดรคลอริก นำไป reflux ที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยการวัดการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่เวลา 0, 3, 9, 12, 15, 18 และ 21 ชั่วโมง

การเตรียมสารละลายภายหลังการ reflux ทำโดยเจือจางตัวอย่างที่เก็บมาให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 1/100 เท่าของความเข้มข้นเดิม ปรับ pH ให้เป็นกลางและใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 300 และ 360 นาโนเมตร คำนวณปริมาณยาไพโรอกซิแคมที่เหลืออยู่และ 2-อะมิโนไพริดีนที่เกิดขึ้นด้วยวิธี Subtraction และ Binary

2.2.5 การประเมินวิธี วิธีวิเคราะห์ปริมาณไพโรอกซิแคมที่เหลือและสารสลายตัวที่เกิดขึ้นในกรดโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริกที่พัฒนาขึ้นผ่านการประเมินดังนี้

- ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงและช่วงความเข้มข้น ทำโดยการเจือจางสารละลายมาตรฐานไพโรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนให้มีความเข้มข้น 5-25

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่นสูงสุด และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตและความเข้มข้นของสาร คำนวณ linear equation และ correlation coefficient (r^2) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel และรายงานช่วงความเข้มข้นของสารที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง

- ความแม่นยำของวิธี ประเมินจากการวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตของยาไพรอกซิแคมของสารละลายผสมยาไพรอกซิแคมต่อ 2-อะมิโนไพริดีนอัตราส่วน 3:7, 5:5, 7:3 ที่ความยาวคลื่น 360 และ 300 นาโนเมตร 5 ครั้ง และนำมาคำนวณค่า %RSD ดังสมการที่ 5

$$\%RSD = X_{ave} 100/SD \quad (5)$$

X_{ave} - ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ต

SD - ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ต

- ความถูกต้องของวิธี ประเมินจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมไพรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนอัตราส่วน 3:7, 5:5, 7:3 และคำนวณ % recovery (%R) ดังสมการที่ 6

$$\%R = \frac{\text{ปริมาณสารที่วิธีวิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณสารใส่จริง}} \times 100 \quad (6)$$

- ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (detection limit, DL) คือความเข้มข้นของสารที่ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตเป็น 3.3 เท่าของค่าดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตของ blank คำนวณดังสมการที่ 7

$$DL = 3.3 SD/S \quad (7)$$

SD - ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตของ blank

S - ค่าความชันของสมการเส้นตรง

- ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (quantitation limit, QL) คือความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ให้ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตเป็น 10 เท่าของค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตของ blank คำนวณดังสมการที่ 8

$$QL = 10 SD/S \quad (8)$$

3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณตัวอย่างยาไพรอกซิแคมโดยวิธีสเปกโตรโฟเมตรี

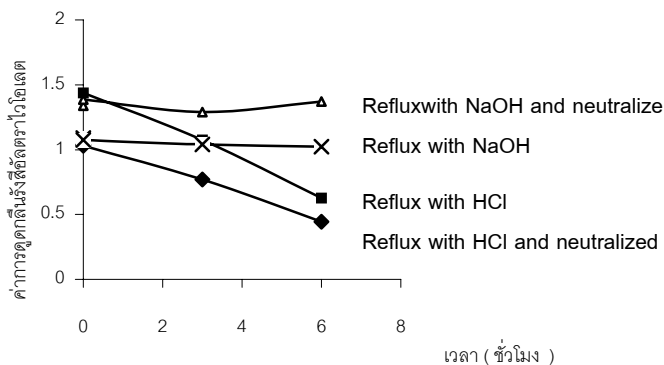
ผลการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมพบว่าเมทานอลร้อยละ 100 หรือเมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 75 : 25 และ 50 : 50 ให้ผลการละลายที่ดีเท่าเทียมกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้ตัวทำละลายเมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 50 : 50 และพบว่าในตัวทำละลายนี้ใช้เวลา 15 นาที จึงละลายผงยาหมด เมื่อนำไป scan ไพรอกซิแคมให้ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตสูงสุดที่ 360 นาโนเมตร และสารละลายมาตรฐานไพรอกซิแคมในช่วง 5 – 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้สมการเส้นตรง $y = 0.0522x + 0.0112$ ($r^2 = 0.9997$) ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างยาไพรอกซิแคมพบว่ายาทั้งสองยี่ห้อที่มีปริมาณยาที่ระบุบนฉลากร้อยละ 97.43 และ 98.47 ซึ่งเข้ามามาตรฐานตามที่ USP 26 กำหนดคือร้อยละ 92.5 - 107.5

3.2 การศึกษาเบื้องต้นการสลายตัวของยาไพรอกซิแคมภายใต้สภาวะกรดและด่าง

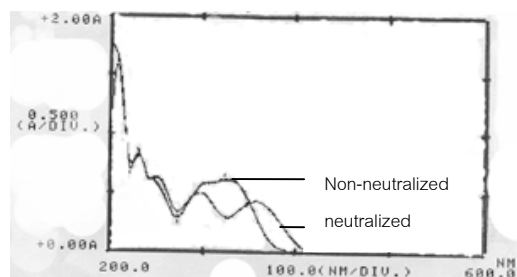
จากการศึกษาการสลายตัวของยาไพรอกซิแคมในกรดและด่างพบว่ายาไพรอกซิแคมมีความคงตัวในต่างแต่สลายตัวในกรด (รูปที่ 1) และพบว่าสารละลายที่ reflux ในกรดและปรับ pH ให้เป็นกลางก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ต ให้สเปกตรัมของสารสลายตัวที่ชัดเจนกว่าสารละลายที่ไม่ได้ปรับ pH (รูปที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมที่ได้กับสเปกตรัมของสารละลายมาตรฐานไพรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีน (รูปที่ 3) สามารถยืนยันได้ว่าสารที่เกิดจากการสลายตัวของไพรอกซิแคมที่ให้การดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตสูงสุดที่ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตร คือ 2-อะมิโนไพริดีน

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณยาไพรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนในสารละลายมาตรฐานผสม (Synthetic mixture)

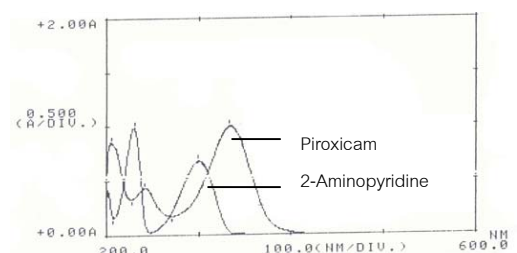
การวัดค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตของสารละลายมาตรฐานทั้งสองในสารละลายกรดที่มีความยาวคลื่น 300 และ 360 นาโนเมตร ได้ผลดังตารางที่ 1, 2 และรูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณยาไพรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนในสารละลายมาตรฐานผสมแสดงเป็น % recovery ดังตารางที่ 3



รูปที่ 1 การสลายตัวของยาไพโรกซิแคมโดยการ reflux ด้วยกรดและด่าง



รูปที่ 2 สเปกตรัมการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของไพโรกซิแคมจากการ reflux ในกรดเปรียบเทียบกับระหว่างสารละลายที่ปรับและที่ไม่ได้ปรับสารละลายให้เป็นกลาง



รูปที่ 3 สเปกตรัมการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของสารละลายมาตรฐานยาไพโรกซิแคมและ 2-อะมิโนไพรีดินในกรดไฮโดรคลอริกที่ปรับให้เป็นกลาง

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของยาไพโรกซิแคมที่ความยาวคลื่น 300 และ 360 นาโนเมตร (n = 5)

Piroxicam (µg/ml)	Abs at 300 nm	Abs at 360 nm
5.6	0.111 (0.049)	0.344 (0.016)
11.1	0.238 (0.046)	0.684 (0.012)
16.7	0.361 (0.046)	0.997 (0.058)
22.2	0.480 (0.019)	1.278 (0.088)
27.8	0.603 (0.065)	1.534 (0.113)

หมายเหตุ; ค่า () ในตารางแสดง %RSD

ตารางที่ 2 ค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของ 2-อะมิโนไพรีดินที่ความยาวคลื่น 300 และ 360 นาโนเมตร (n = 5)

2-Aminopyridine (µg/ml)	Abs at 300 nm	Abs at 360 nm
7.3	0.487 (0.011)	0.001 (44.72)
14.5	0.981 (0.056)	0.003 (1.542)
21.8	1.458 (0.010)	0.003 (1.597)
29.0	1.925 (0.029)	0.002 (5.229)
36.3	2.346 (0.024)	0.002 (4.159)

หมายเหตุ; ค่า () ในตารางแสดง %RSD

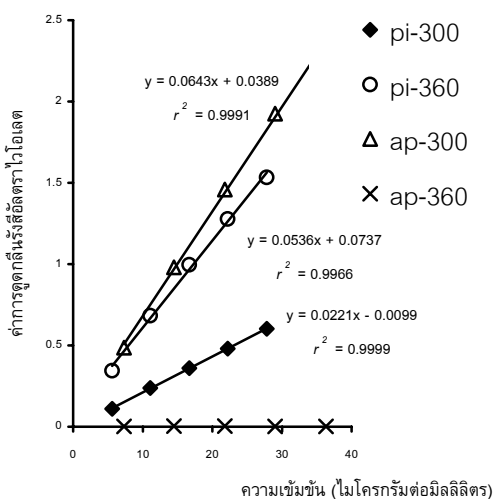
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณยาไพโรกซิแคมและ 2-อะมิโนไพรีดินในสารละลายมาตรฐานผสม

Pi : 2AP (µg/ml)	Piroxicam (% R)	2-aminopyridine (% R)
	Subtraction	Binary ion
7:3	101.2	101.0
5:5	101.0	100.2
3:7	106.0	105.1

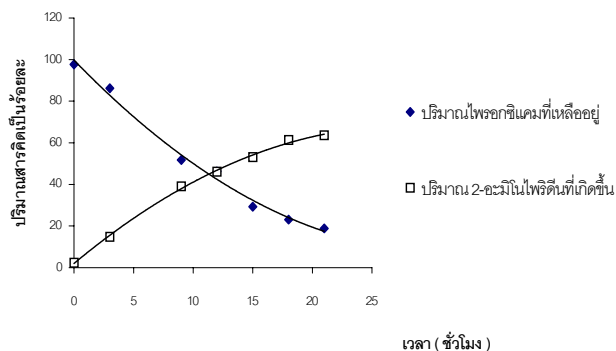
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณยาไพโรกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนภายหลังการ reflux ในกรดไฮโดรคลอริก ผลการคำนวณปริมาณไพโรกซิแคมที่เหลือและ 2-อะมิโนไพริดีนที่เกิดขึ้นด้วยวิธี Subtraction และ Binary แสดงในตารางที่ 4 รูปที่ 5 และ 6

ตารางที่ 4 ปริมาณยาไพโรกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนภายหลังการ reflux ตัวอย่างยาแคปซูลไพโรกซิแคมในกรด คำนวณโดยวิธี Subtraction และ Binary method

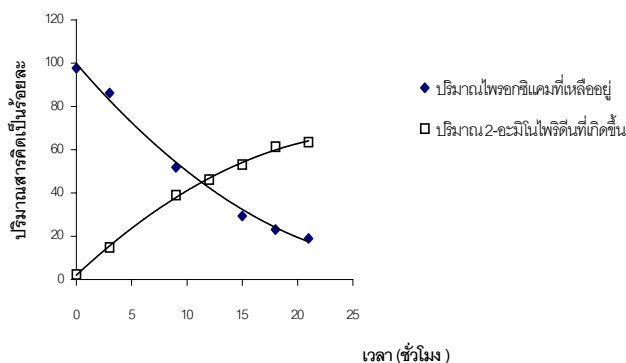
Time (h)	Piroxicam(%)		2-Aminopyridine (%)	
	Subtract ion	Binary	Subtract ion	Binary
0	97.68	97.66	2.32	2.34
3	86.23	86.21	14.82	14.84
9	51.79	51.76	39.02	39.06
12	46.29	46.26	46.15	46.19
15	29.30	29.27	53.11	53.16
18	23.10	23.06	61.37	61.41
21	18.91	18.87	63.54	63.59



รูปที่ 4 สมการเส้นตรงระหว่างค่าการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานไพโรกซิแคม (pi) และ 2-อะมิโนไพริดีน (ap) ที่ความยาวคลื่น 300 และ 360 นาโนเมตร



รูปที่ 5 ปริมาณยาไพโรกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนภายหลังการ reflux ตัวอย่างยาแคปซูลไพโรกซิแคมในกรด คำนวณโดยวิธี Subtraction method



รูปที่ 6 ปริมาณยาไพโรกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนภายหลังการ reflux ตัวอย่างยาแคปซูลไพโรกซิแคมในกรด คำนวณโดยวิธี Binary method

3.5 การประเมินวิธี การประเมินวิธีวิเคราะห์ไพโรกซิแคมที่เหลือและ 2-อะมิโนไพริดีนที่เกิดขึ้น โดยการวัดการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 360 และ 300 นาโนเมตร ตามลำดับ พบว่าวิธีมีความสัมพันธ์เป็นสมการเส้นตรง $y = 0.0536x + 0.0737$ ($r^2 = 0.9966$) และ $y = 0.0643x + 0.0406$ ($r^2 = 0.9992$) และมีเปอร์เซ็นต์ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน (%RSD) ในช่วง 0.01–0.11 และ 0.01–0.06 เปอร์เซ็นต์ สำหรับไพ

รอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีน ตามลำดับ เมื่อคำนวณปริมาณสารละลายผสมระหว่างสารทั้งสองตัวโดยวิธี Subtraction และ Binary พบ %Recovery สำหรับปริมาณไพรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนเป็น 103.0 และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณด้วยวิธีแรก และเป็น 102.1 และ 99.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณด้วยวิธีที่สอง ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้และค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ของไพรอกซิแคมมีค่า 6.27 และ 19.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้และค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ของ 2-อะมิโนไพริดีนมีค่า 4.71 และ 14.29 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4. สรุปผลการทดลอง

โครงการนี้พัฒนาวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไพรอกซิแคมที่เหลือและสารละลายตัวที่เกิดขึ้นภายใต้ภาวะเร่ง พบว่ายาไพรอกซิแคมคงตัวในต่างประเทศสลายตัวในกรดให้สารละลายตัวที่สำคัญคือ 2-อะมิโนไพริดีน เมื่อคำนวณโดยวิธี Subtraction และ Binary พบว่าไพรอกซิแคมและ 2-อะมิโนไพริดีนที่ได้จากการคำนวณด้วยวิธีทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิธีที่พัฒนาขึ้นได้ผ่านการประเมินและพบว่าเป็นวิธีที่ถูกต้องแม่นยำ ง่าย สะดวก รวดเร็ว และไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย จึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการศึกษาความคงตัวของยาไพรอกซิแคม

5. กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สำหรับการศึกษาความคงตัวของยาไพรอกซิแคมโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี ขอขอบคุณภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลที่เอื้อเฟื้อสถานที่รวมทั้งอุปกรณ์ในการทดลอง คุณลาวัลย์ ศรีธธาพุทธและโรงงานซีฟาร์มที่เอื้อเฟื้อสารมาตรฐานไพรอกซิแคม โครงการพิเศษนี้ได้รับเงินทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงการอุตสาหกรรม สำหรับปริญญาตรี ประจำปี 2546

เอกสารอ้างอิง

- Barthsch, H.; Eiper, A.; Kopelent, F.H.; Stability indicating assay for the determination of piroxicam comparison of methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1999**, 20: 531-41.
- Fritz, J.S.; Schenk, G.H. Quantitative Analytical Chemistry. Allyn And Bacon, Inc. USA 1987: 360 – 61.
- Klans, F. Analytical Profiles of Drug Substances. Volume 15. Academic Press, Inc. USA 1986: 511 – 30.
- McEvoy, G.K.; Litvak, K.; Welsh, O.H. et al. AHFS 96 Drug information. 1996: 1448 – 52.
- Puthli, S.P.; Vavia, P.R.; Stability indicating HPLC determination of piroxicam. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2000**, 22: 673-77.
- United State Pharmacopoeia 24, National Formulary 19. 1999: 1342 – 43.
- British Pharmacopoeia. HMSO. London 2001: 1320- 23.