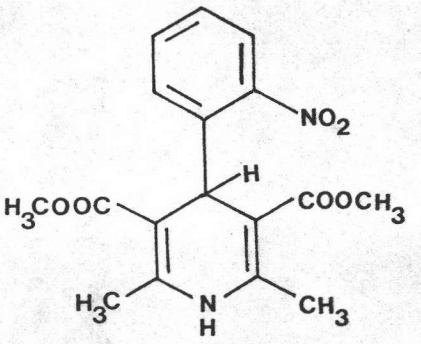
บทที่ 1

บทนำ

ไนเฟดิพีน มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น 1,4-Dihydro-2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-3,5-pyridine dicarboxylic acid dimethyl ester ดังแสดงในรูปที่ 1 มีน้ำหนักโมเลกุล 346.34 มีลักษณะเป็นผงผลึกสีเหลืองไม่มีกลิ่น และไม่มีรส จุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 171°-175°ซ ไนเฟดิพีนมีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ดีในอะซีโตน, คลอโรฟอร์ม ละลายได้น้อยในเอทานอล ไนเฟดิพีนเป็นสารที่มีคุณสมบัติไวต่อแสง (Moffat, Jackson, Moss, and Widdop, eds.,1986 ; Windholz, Budavari, Blumetti, and Otterbein, eds., 1983) จึงควรเก็บไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิประมาณ 15-25°ซ ในภาชนะที่ปิดสนิทและกันแสง



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไนเฟดิพีน

ไนเฟดิพีนแสดงฤทธิ์เป็นสารสกัดกั้นช่องทางแคลเซียม (Calcium Channel Blocker) จึงถูกนำมาใช้ในทางคลินิกอย่างแพร่หลาย ในการรักษาและป้องกันอาการ Angina Pectoris และ ภาวะความดันโลหิตสูง โดยไนเฟดิพีนช่วยเพิ่ม Cardiac Output และ ลด Peripheral Resistance (Henry, 1980)

การบริหารยา กระทำทั้งโดยการฉีดเข้าเส้นเลือดดำหรือรับประทาน รูปแบบของเภสัชภัณฑ์ที่แพร่หลายภายในประเทศคือ soft gelatin capsules ขนาด 5 และ 10 มก. ภายใต้ชื่อการค้า Adalat®, Nifecard®, Nelapine®, Calcigard® และยังมีรูปแบบของยาเม็ดที่ออกฤทธิ์เนิ่น ในขนาด 20 มก. ภายใต้ชื่อการค้า Adalat®, Nifecard® ขนาดยาประมาณ 15-60 มก.ต่อวัน (Oo, 1989) หลังจากรับประทานยา ตัวยาจะถูกดูดซึมกว่า 90 % และจะถูกเมตาบอไลส์ไปเป็นส่วนมาก (Henry, 1980) มีรายงานว่าระดับยาสูงสุดในพลาสมามีค่าต่ำกว่า 100 นาโนกรัม/มล.(Stone, Antman, Muller, and Braunwald, 1980) ในขณะที่ระดับยาในพลาสมาที่มีผลต่อการรักษานั้น อยู่ในช่วง 25-100 นาโนกรัม/มล. (Henry, 1980) และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา(Elimination half-life) ในคน มีค่าประมาณ 2 ชั่วโมง (Stone et al., 1980) เมตาโบไลท์ที่เกิดขึ้นทุกตัวไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Henry, 1980 ; Kleinbloesem, and Harten, 1984 ; Kondo et al., 1980 ; Pietta, Rava, and Biondi, 1981 ; Stone et al., 1980)

ไนเฟดิพีนเป็นยาที่มีขนาดการรับประทานต่ำมาก ทำให้ปริมาณยาที่จะตรวจพบในกระแสโลหิตต่ำไปด้วย ดังที่กล่าวไปแล้ว ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณของตัวยาในของเหลวชีวภาพ เช่น เลือด หรือ ซีรัม หรือ พลาสมา จึงมีความจำเป็นจะต้องใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีความไวสูงมาก

การวิเคราะห์หาปริมาณไนเฟดิพีนในพลาสมา เป็นสิ่งที่จำเป็น มีรายงานต่าง ๆ ในวารสารต่างประเทศที่กล่าวถึงวิธีการวิเคราะห์ตัวยา โดยที่ใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) หรือ ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography) รวมทั้งเทคนิคอื่น ๆ ด้วย ดังนี้คือ ในปี 1972 Schlossmann ได้ใช้วิธีทางฟลูออเรสเซนส์ (Schlossmann, 1972) ในการตรวจหาปริมาณไนเฟดิพีน ซึ่งวิธีนี้ต้องเกี่ยวข้องกับรีดักชันหมู่ไนโตรบนสูตรโครงสร้างไนเฟดิพีนให้เป็นหมู่อะมิโน หลังจากนั้นจึงทำปฏิกิริยาออกซิเดชันของวงไดไฮโดรไพริดีน โดยการให้ถูกแสง และทำปฏิกิริยากับ O-phthaldialdehyde เพื่อให้เกิดอนุพันธ์ที่สามารถให้แสงฟลูออเรสซ์ วิธีวิเคราะห์นี้ สามารถตรวจหาระดับไนเฟดิพีนได้เพียง 0.3 มคก./มล. นอกจากนี้ Gouldและคณะ (Gould, Murphy,and Snyder, 1983)ได้ใช้ Radioreceptor assay โดยใช้ Cerebral Cortex Membranes เป็นแหล่งของ Binding Sites ความเข้มข้นที่ตรวจพบได้อยู่ในช่วง 3.5-35 นาโนกรัม/มล.

มีรายงานการวิเคราะห์ปริมาณไนเฟดิพีน โดยเทคนิคทางแก๊สลิควิดโครมาโทกราฟี (Gas Liquid Chromatography, GLC) โดยที่ใช้การตรวจวัดด้วย Flame Ionization Detector (Testa, Dolfini, Reschiotto, Secchi, and Biondi, 1979), Electron Capture Detector (Dokladalova, Tykal, Coco, Durkee, Quercia, and Korst, 1982 ; Hamann and Mc Allister, 1983 ; Jakobsen, Pedersen, and Mikkelsen, 1979; Kondo et al., 1980 ; Lesko, Miller, Yeager, and Chatterji, 1983 ; Schmid, Perry, and Idle, 1988 ; Tanner, Romagnoli, and Kramer, 1986 ; Tucker, Minty, and Mac Gregor, 1985), Mass Spectrometric(Higuchi and Shiobara, 1978; Jakobsen et al.,1979 ; Patrick, Jarvi, Straughn, and Meyer, 1989) หรือ Nitrogen - Phosphorus

Ionization (Rosseel and Bogaert, 1983) Detector การใช้เทคนิคทาง GLC สามารถวิเคราะห์หาปริมาณยาได้ต่ำถึงประมาณ 1 - 5 นาโนกรัม/มล. (Dokladalova et al., 1982 ; Higuchi and Shiobara, 1978 ; Jakobsen et al., 1979 ; Kondo et al., 1980 ; Patrick et al., 1989 ; Rosseel and Bogaert, 1983 ; Schmid et al., 1988 ; Tanner et al.,1986 ; Testa et al., 1979 ; Tucker et al., 1985) แต่ไนเฟดิพีนอาจจะถูกออกซิไดส์ไปในระหว่างขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ต้องใช้อุณหภูมิสูง (Higuchi and Shiobara, 1978 ; Kondo et al., 1980) สารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นเป็นสารตัวเดียวกับเมตาบอไลท์ของตัวยาในคน (Snedden, Fernandez, and Nath, 1986) ซึ่งความเข้มข้นที่ปรากฏในพลาสมานั้น ใกล้เคียงกับตัวยา (Dokladalova et al., 1982) ดังนั้นวิธี GLC จึงเป็นวิธีไม่ค่อยจำเพาะเจาะจงนัก

นอกจากนี้แล้ว Akira และคณะ (Akira, Baba, and Aoki, 1988) ได้ใช้เทคนิค Radio-Gas Chromatography ในการหาปริมาณไนเฟดิพีนในพลาสมา รายงานว่า วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงสูงมาก อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก็ยุ่งยากกว่า จากการที่ต้องมีการสังเคราะห์สารที่ติดฉลากกัมมันตรังสีขึ้นมาและยังต้องตรวจหากัมมันตรังสี ซึ่งต้องอาศัยเครื่องมือเฉพาะกับสารกัมมันตรังสี วิธีนี้จึงไม่สะดวก

การใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC) สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วย GLC ได้ และมีรายงานมากมายที่ใช้เทคนิค HPLC(Bach, 1983 ; Gurley, Buice, and Sidhu, 1985 ; Huebert, Spessing, and Haegele, 1986 ; Kleinbloesem, and Harten, 1984 ; Miyazaki et al.,1984 ; Nitche, Schutz, and Eichinger, 1987 ; Pietta et al.,

1981 ; Sadanaga et al.,1982 ; Sheridan, Clark, and Robinson, 1989 ; Snedden, Fernandez,Galway et al.,1984 ; Snedden, Fernandez, and Nath , 1986 ; Sugimoto et al., 1980 ; Suzuki, Fujiwara, Kondo, and Sugimoto, 1985) บางวิธีก็ยังมีการออกซิไดส์ตัวยาก่อนที่จะวิเคราะห์ (Sadanaga et al., 1982) ซึ่งจะยุ่งยากและมีความจำเพาะเจาะจงน้อย นอกจากนี้ยังต้องใช้ตัวอย่างในปริมาตรถึง 3 มล. บางวิธีมีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อนในการสกัดตัวยาจากตัวอย่าง (Bach, 1983) หรือบางรายงานก็เป็นวิธีที่ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์ด้วย HPLC ต่อตัวอย่างนานกว่า 25 นาที หรือมีลักษณะโครมาโทแกรมที่มีการรบกวนค่อนข้างสูง (Huebert et al., 1986 ; Snedden, Fernandez, and Nath ,1986 ; Miyazaki et al., 1984) หรือ ได้ทดลองศึกษาในพลาสมาของสัตว์ทดลองเท่านั้น (Huebert et al., 1986; Pietta et al., 1981 ; Sadanaga et al., 1982)ได้มีการใช้เทคนิค Solid-Phase Extraction (Nitche et al., 1987 ; Sheridan et al., 1989) ซึ่งนับว่าสะดวก ประหยัดเวลา ทำให้จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้ภายใน 1 วันเพิ่มขึ้น และยังสามารถหลีกเลี่ยงการสลายตัวจากแสงของตัวยาที่อาจจะเกิดขึ้นในระหว่างการสกัดด้วยตัวทำละลายได้ด้วย อย่างไรก็ตาม Solid-Phase Extraction คอลัมน์มีราคาค่อนข้างสูง และมีอายุการใช้งานค่อนข้างสั้น ดังนั้นการที่จะนำเทคนิคนี้ มาประยุกต์ในห้องปฏิบัติการทางคลินิก จึงควรพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ที่สูง

ดังที่ได้กล่าวไปแล้วว่า ระดับยาที่จะทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณนั้นต่ำกว่าระดับยาอื่น ๆ ทั่วไป ซึ่งเป็นปัญหาหนึ่งในการที่จะวิเคราะห์หาปริมาณตัวยานี้ ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีโดยใช้การตรวจสอบโดยการดูดกลืนแสง นอกจากนี้ การศึกษาพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ผู้วิจัยได้ทดลองในช่วงแรก โดยใช้แนวการศึกษาทดลองตามวิธีต่าง ๆ ที่รายงานมาแล้วนั้น ตัวอย่างเช่น การศึกษาของ Kleinbolesem และคณะ (1984) ซึ่งใช้คอลัมน์ MOS-Hypersil^{R}

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และ Mobile Phase ที่ประกอบด้วยอะซีเตทบัฟเฟอร์ pH 4.0 (0.05โมลาร์) กับ แอซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วน 7:5 หรือ การศึกษาของ Pietta และคณะ (1981) ซึ่งใช้คอลัมน์ μ-Bondapak C_{18} และ Mobile Phase ที่ประกอบด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.1 (0.01 โมลาร์) กับ เมทานอล ในอัตราส่วน 45:55 นั้น พบว่า ผลการศึกษาทดลองมีความใกล้เคียงกับที่เคยรายงานไว้แล้วน้อย เช่น รูปแบบของโครมาโทแกรม, ลักษณะของสิ่งรบกวนที่ปรากฏ, ฯลฯ เป็นต้น ทั้งนี้อาจเป็นด้วยสภาวะการทดลอง ที่ไม่สามารถเหมือนกับสภาวะการทดลองตามรายงานทุกประการ หรือ ลักษณะตัวอย่างพลาสมาที่แตกต่างกัน วิธีการวิเคราะห์ไนเฟดิพีนในพลาสมา จึงไม่อาจยึดถือตามรายงานที่ตีพิมพ์เหล่านี้ได้ การศึกษาครั้งนี้ จึงมุ่งศึกษาเพื่อที่จะให้ได้วิธีการที่มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย สะดวก ประหยัดเวลา และเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความไว ความจำเพาะเจาะจงเพียงพอ รวมทั้งใช้เวลาการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างน้อยในการหาปริมาณไนเฟดิพีนในพลาสมาของคนด้วยเทคนิคทาง HPLC

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

1. เพื่อให้ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพ มีขั้นตอนการทำที่สะดวก ประหยัดเวลาในการแยกไนเฟดิพีนในพลาสมาของคน
2. เพื่อให้ได้วิธีการวิเคราะห์ไนเฟดิพีนในพลาสมาของคน โดย HPLC ที่จำเพาะเจาะจงและใช้เวลาน้อยในการวิเคราะห์ต่อตัวอย่าง
3. นำวิธีวิเคราะห์ที่ได้นี้ไปวิเคราะห์ตัวอย่างพลาสมาจากอาสาสมัครที่รับยาไนเฟดิพีน

<u>ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ</u>

1. ทำให้ได้วิธีการใหม่ ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนเฟดิพีนในพลาสมาของคนโดยใช้เทคนิค HPLC

2. ทำให้ได้วิธีการที่เหมาะสมในการแยกไนเฟดิพีนออกจากพลาสมาของคน

3. สามารถนำวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนเฟดิพีนในพลาสมา ที่พัฒนาได้ไปใช้ในการศึกษาที่จำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนเฟดิพีนในพลาสมา เช่น การศึกษาการเอื้อประโยชน์ (Bioavailability) ของตัวยาในร่างกาย การตรวจระดับยาในผู้ป่วย การพัฒนารูปแบบตำรับยา ตลอดจนการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลนศาสตร์