



บทที่ 1

บทนำ

แอสไพรินเป็นยาที่ใช้แพร่หลายทั่วโลก สำหรับลดไข้ แก้ปวดทั่วไป โดยเฉพาะปวดหัว ปวดกล้ามเนื้อ ปวดหลังน้ำตืด ปวดบาดแผล ปวดหลังคลอด ปวดประจำเดือน ปวดจากการเกิดเป็นเนื้อร้าย ปวดจากการเป็นไขหวัด หรือ โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ ปวดฟัน ลดการอักเสบ และ รักษาโรคไขข้อ ทั้งเฉียบพลันและเรื้อรัง ในปัจจุบันมักจะมีพบในรูปของตัวยาเดี่ยว ๆ เช่น ยานีคแอสไพริน หรือ แคลปซูล หรือ ร่วมกับตัวยาอื่น ๆ เพื่อให้ประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น APC (Aspirin, Phenacetin, Caffeine)

Codopyrin (Aspirin, Phenacetin, Codeine Phosphate)

Counterpain (Aspirin, Paracetamol, Caffeine)

Disprin (Aspirin, Calcium Carbonate, Anhydrous Citric Acid)

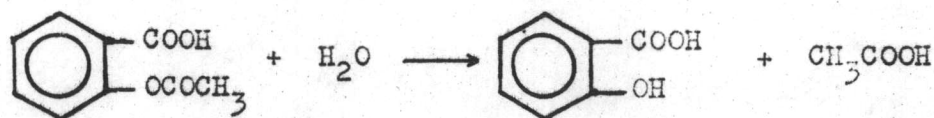
Medicol (Aspirin, Paracetamol, Vitamin C)

และอื่น ๆ

การที่ยังนิยมใช้ เพราะแอสไพรินถูกดูดซึมได้เร็ว จากช่องทางเดินอาหารส่วนบน ออกฤทธิ์ภายใน 2 - 3 นาที หลังจากนั้นจะถูกขับออกทางไต โดยไม่สะสมไว้ในร่างกาย หากใช้ยาในขนาดสูง ๆ หรือใช้บ่อย ๆ อาจจะมีผลที่ไม่ต้องการได้ เช่น ทำให้เยื่อกระเพาะอาหารเกิดการระคายเคืองเป็นแผล ทำให้เลือดออกในกระเพาะ หรือ เกิดอาการปวดท้อง อาการที่เกิดกับคนไข้ที่แพ้แอสไพริน จะเกิดการพุพองตามผิวหนัง มีการขยายตัวของเยื่อผนังในจมูกและคอทำให้มีอาการคล้ายหืด

สาเหตุสำคัญที่ทำให้กระเพาะอาหารเป็นแผล เนื่องจากกรดซาลิซิลิก ซึ่งเป็นสารที่ได้จากการสลายตัวโดยขบวนการ hydrolysis of the ester group ของแอสไพริน

ดังนี้



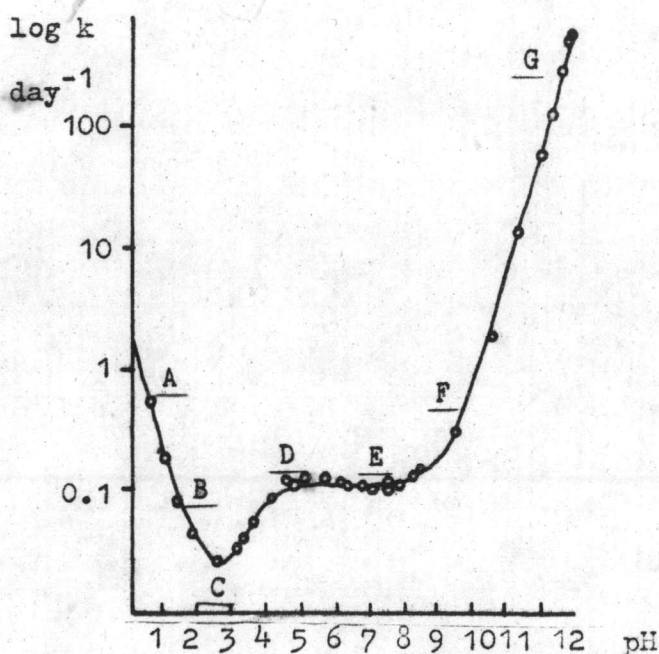
Aspirin

Salicylic Acid

Acetic Acid

ได้มีการทดลอง เกี่ยวกับการสลายตัวของแอสไพรินกันอย่างกว้างขวางและแพร่หลาย โดยอาศัยหลักการ เปลี่ยนแปลงสภาพของการทดลองต่าง ๆ เช่น ความร้อนและตัวทำละลาย เป็นต้น จากรายงาน (1) พบว่า ความชื้นเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการสลายตัวไว้ แม้แต่ ความชื้นเล็กน้อยแอสไพรินก็จะเริ่มสลายตัว และจะสลายตัวเร็วขึ้น ถ้ามีความร้อนเป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยา Bath (2) ทำการทดลองที่ 100°C พบว่าแอสไพรินสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว การทดลองทำโดย titrate ความเป็นกรดทั้งหมด ในเวลาเป็นช่วง ๆ ผลที่ได้สรุปว่าเป็น a monomolecular reaction Tsakalotos และ Horsech (3,4) ทำการทดลองที่ 20° 50° และ 60°C พบว่า แอสไพรินจะเกิดการสลายตัวอย่างสมบูรณ์ ที่ 20°C ในเวลา 100 วัน นอกจากนี้ ยังได้พบว่า hydrogen ion จะไปเร่งอัตราการสลายตัว โดยเฉพาะ hydrogen ion ที่เกิดจาก hydrochloric acid จะให้ผลมากกว่า sulfuric acid ส่วน hydrogen ion จาก acetic acid และ citric acid นั้น จะไปเพิ่มอัตราการสลายตัวของแอสไพรินในตอนแรก แต่ในเวลาต่อมา จะลดการสลายตัวลง ทั้งนี้เพราะว่า กรดซาลิไซลิกที่เกิดขึ้น เกิด acylated กับ acetic acid หรือ citric acid ทำให้ปฏิกิริยาลดลงคือ wolf (5) ทดลองเปรียบเทียบการสลายตัวของแอสไพริน ในน้ำ และใน diluted hydrochloric acid พบว่าการสลายตัวของแอสไพรินใน diluted hydrochloric acid จะมีอัตราเร็วเป็น 2 เท่าของในน้ำ Morton (6) ได้แสดงให้เห็นว่า อัตราการสลายตัวไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของแอสไพริน และ solubilizing salt (K & Na citrate & acetate) Lather & Greenapan (7) ศึกษาการสลายตัวของ แอสไพรินในด่าง (sodium hydroxide) สรุปได้ว่าการสลายตัวเป็นไปตาม a second - order rate constant

Laward ((8,9) ได้ศึกษาการสลายตัวของแอสไพรินเจือจาง ($3 \times 10^{-3} M$) ที่ pH ต่าง ๆ กัน พบว่าอัตราการสลายตัวเป็น first order ที่ pH ใด ๆ หนึ่ง (ในช่วง pH 0.53-12.77 ionic strength คงที่ ที่ $17'$) ตามรูป pH - rate profile for hydrolysis of aspirin



curve นี้เป็นแบบเล็กน้อย ถ้า ionic strength เปลี่ยนแปลงไป การศึกษาทำในช่วงอุณหภูมิ 10-50° ซ ทุก ๆ อุณหภูมิจะได้ curve ที่มีรูปร่างเหมือนกัน แต่เคลื่อนที่สูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จาก curve แสดงให้เห็นว่า การสลายตัวถูกเร่งปฏิกิริยาโดย hydrogen ion (ในส่วน AB ของรูป) และการเร่งปฏิกิริยานี้จะเพิ่มขึ้นโดย hydroxyl ion (ส่วน FG ของรูป) ในช่วง pH 5-8 (ส่วน DE ของรูป) อัตราการสลายตัวจะคงที่ แสดงว่าเป็น spontaneous reaction เนื่องจากแอสไพรินใน pH ช่วงนี้มีลักษณะเป็น acid anhydride และทำหน้าที่เป็น acetylating agent ที่ทำให้เกิด intramolecular catalysis ((10)) ในช่วง pH 2-3 (ส่วน C ของรูป) อัตราการสลายตัวจะลดลงน้อยที่สุด ที่ pH 2.44

อย่างไรก็ตามการสลายตัวของแอสไพรินใน aqueous system ที่ pH คงที่ เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป จะมี over all rate เป็น pseudo first order reaction (8,9,11) ในการทดลองเติม alcohol และ dioxane ลงไป พบว่า alcohol จะไปเพิ่มอัตราการสลายตัว เนื่องจาก alcohol มี nucleophile มากกว่าน้ำ ผลการทดลองเมื่อเพิ่มปริมาณ alcohol จาก 0-60 % ได้ผลเป็น ethyl acetate ซึ่งไปช่วยเร่งการละลายของแอสไพริน แต่ปริมาณของ dioxane ที่เติมลงไป จะไม่มีผลต่อการสลายตัวของแอสไพรินเลย (12,13)

ถ้าผลิตและเก็บยาไว้ในสภาพที่ไม่ดี จะทำให้เกิดการสลายตัวของแอสไพรินได้ ถ้าปริมาณกรดซาลิไซลิกสูง เกินขีดจำกัดแล้ว แม้จะหาปริมาณของแอสไพรินได้เข้ามาตรฐาน ก็ไม่สมควรนำมาใช้ เพราะจะทำให้เกิดโทษมากกว่าประโยชน์ ในการวิเคราะห์ยาเม็ดแอสไพริน ตามวิธี official โดยทั่ว ๆ ไป จะต้องมีการหาปริมาณของแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกอยู่ในมาตรฐาน ดังตัวอย่างต่อไปนี้

Official Method	Aspirin Content	Content of Salicylic Acid in Sample
USP XIX Tablet	95 - 105 %	not more than 0.3 %
NF XIV Capsule	93 - 107 %	" 0.75 %
BP 1973 Tablet	95 - 105 %	" 0.15 %
Japan 1973 Powder	not less than 99.50%	" 1.0 %

จากตารางข้างบนนี้แสดงให้เห็นว่า แต่ละวิธีไม่ได้หาปริมาณของกรดซาลิไซลิกออกมาแน่นอน เป็นการเปรียบเทียบกับปริมาณของกรดซาลิไซลิกมาตรฐาน ที่เตรียมไว้เท่านั้น

การวิจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งได้กระทำมาแล้ว

เนื่องจากแอสไพรินเป็นสารที่สลายตัวได้ง่าย การวิเคราะห์ในสมัยแรก ๆ ได้ตรวจหาสารที่เกิดจากการสลายตัว เช่น acetic acid แล้วจึงพิจารณาต่อความนำไฮของแอสไพรินต่อไป การหาปริมาณของ acetic acid ทำโดยให้อากาศ ผ่านชั้นบาง ๆ ของผงยาตัวอย่าง เก็บไฮของ acetic acid ในน้ำ แล้ว titrate หาปริมาณด้วย sodium hydroxide ที่เจือจางมาก ๆ วิธีนี้ต่อมาได้ปรับปรุงให้สะดวกขึ้นโดยใช้ a Conway micro diffusion cell หรือใช้วิธีละเอียดมากคือ GLC (Gas Liquid Chromatography) แต่ถ้าภาชนะที่เก็บยาปิดไม่สนิท acetic acid ก็ระเหยไปได้ เพราะฉะนั้นปริมาณที่หาได้ก็ไม่ใช่ปริมาณของ acetic acid ที่เกิดจากการสลายตัวของแอสไพรินทั้งหมด

สารที่เกิดจากการสลายตัวของแอสไพรินอีกตัวคือ กรดซาลิไซลิก อาจจะปรากฏเป็นผลึกแห้งบางยาวบนพื้นผิวของยาเม็ดที่มีแอสไพรินอยู่ด้วย จึงอาจจะทำการหาปริมาณของกรดซาลิไซลิกได้แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าภาชนะที่เก็บปิดไม่สนิท กรดซาลิไซลิกก็จะระเหิดออกไป นอกจากนี้ไม่สามารถใช้กับยาใหม่ได้ เพราะต้องการเวลาให้เกิดการระเหิดด้วยอีกประการหนึ่งถึงแม้ว่าจะไม่มีผลึกของกรดซาลิไซลิกปรากฏให้เห็น แต่ภายในยานั้นอาจมีปริมาณของกรดซาลิไซลิกสูง

ในสมัยต่อมาได้มีการค้นหาปริมาณของแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกมากกว่าที่จะหาปริมาณของแอสไพรินและ acetic acid

Separation

1. Column Chromatography

มีการค้นคว้ามากมายเกี่ยวกับการใช้ column chromatography ในการแยกแอสไพรินและกรดซาลิไซลิก และได้นำมาใช้ในการหาปริมาณใน USP XIX และ NF XVII (14, 15) หลักการทั่วไปคือละลายตัวอย่าง (แอสไพรินและกรดซาลิไซลิก) ใน

chloroform นำไปผ่าน column ที่มีส่วนผสมของ siliceous earth กับ sodium bicarbonate เป็น immobile phase กรดซาลิไซลิกจะทำปฏิกิริยากับ sodium bicarbonate และถูกจับไว้ใน column ส่วนแอสไพรินจะถูกพาออกมาด้วย glacial acetic acid ใน chloroform glacial acetic acid เติมลงไปเพื่อรักษาแอสไพรินไม่ให้สลายตัว นำแอสไพรินที่ได้นี้ไปหาปริมาณโดย UV Spectrophotometer ที่ 280 nm เปรียบเทียบกับมาตรฐาน

ส่วนการหาปริมาณของกรดซาลิไซลิกทำได้โดยผ่านสารละลายตัวอย่างไปบน column ที่บรรจุด้วย immobile phase 2 ชั้น ชั้นบนประกอบด้วย siliceous earth กับ ferric chloride-urea ferric chloride จะรวมกับกรดซาลิไซลิกเป็นสารประกอบสีม่วง และ urea ช่วยทำให้ชั้นบนชั้นล่างประกอบด้วย siliceous earth กับ phosphoric acid ซึ่งจะช่วยจับ ferric chloride ไว้ไม่ให้รั่วออกมา หลังจากแยกแอสไพรินออกมาด้วย chloroform แล้วจึงไล่กรดซาลิไซลิกออกมาด้วย glacial acetic acid ใน ether ตามด้วย chloroform ใส่น volumetric flask ที่มี hydrochloric acid ใน methanol เติม chloroform ให้ครบปริมาตร นำสารละลายที่ได้ไปวัด absorbance ที่ 306 nm เปรียบเทียบกับมาตรฐาน

ในยาเม็ดแอสไพรินเคลือบหรือมี buffer อยู่ด้วย กรดซาลิไซลิกจะถูกดูดหรือรวมกับ buffer component ไว้ จึงใช้ citric acid กับตัวอย่างในจำนวนที่เท่ากัน เพื่อไล่กรดซาลิไซลิกออกมาแล้วสกัดด้วย chloroform นำไปหาปริมาณแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกต่อไป

วิธีนี้มีความแม่นยำดีแต่เสียเวลาในการบรรจุ column ให้สม่ำเสมอ และต้องทำด้วยความรวดเร็วเพราะถ้าแอสไพรินค้างอยู่ใน column นาน ๆ จะเกิดการสลายตัวได้

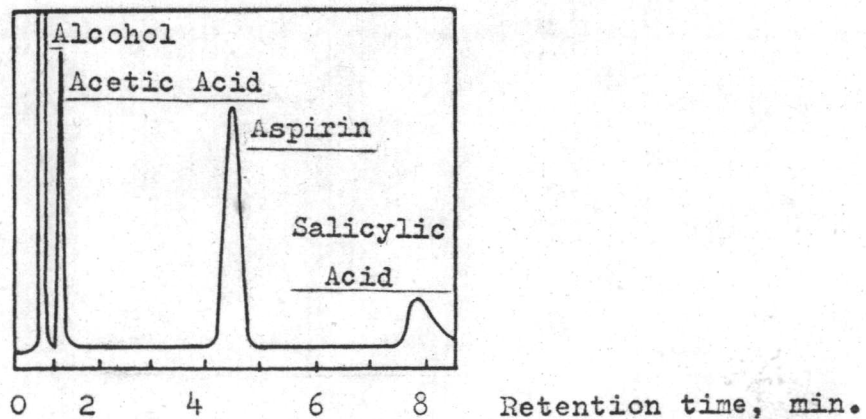
2. Sephadex Gel Filtration

มีการทดลองใช้ Sephadex Gel ชนิดต่าง ๆ บรรจุใน column แยกแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกออกจากกัน ใช้กับ biological fluid เช่น plasma และ urine โดยให้หลักที่ว่า Sephadex Gel จะจับสารทั้งสองไว้และปล่อยออกมาในเวลาที่ไม่เท่ากัน จากรายงานกล่าวว่าจะไม่เกิดการสลายตัวของแอสไพรินใน column (16)

3. Gas Liquid Chromatography (GLC)

GLC เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงในการวิเคราะห์แอสไพรินและสารที่เกิดจากการสลายตัวของแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกจะถูกเปลี่ยนไปเป็น methyl ester โดยการทำปฏิกิริยาเคมีกับ diazomethane ใน tetra hydro furan solⁿ สารที่ได้นำมาฉีดเข้าในเครื่อง GLC ใช้ Diatoport S Glass column เป็น immobile phase และ methyl O - methoxy benzoate เป็น internal standard

วิธีนี้ให้ผลแม่นยำเท่ากับวิธีของ USP แต่ปริมาณของกรดซาลิไซลิกที่ได้สูงกว่าเล็กน้อย (17, 18) การทดลองจะแยกแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกได้ดีเมื่อตั้งอุณหภูมิ 100° - 105° และใช้ column ยาว 1.23 - 1.83 m (19) และภายในสภาพที่ใช้หาปริมาณของแอสไพรินก็สามารถหาปริมาณของกรดซาลิไซลิก และ acetic acid ได้ตามรูป



Gas Chromatogram of Aspirin in Alcohol



Volumetric Titration

1. Residual Titration

เป็นการหาปริมาณของค่างที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับแอสไพรินและสารที่ละลายตัวโดยการนำตัวอย่างมาทำปฏิกิริยากับ sodium hydroxide ได้เป็น sodium aspirin และ sodium salicylate เพื่อที่จะหาปริมาณค่างที่ทำปฏิกิริยากับแอสไพรินเพียงอย่างเดียวก็โดยการเติมค่างลงไปให้มากเกินไปแล้วนำไป hydrolyze โดยการต้ม sodium - aspirin ก็จะละลายตัวได้ sodium salicylate กับ acetic acid ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อเป็น sodium acetate แล้ว titrate ค่างที่เหลือด้วย hydrochloric acid โดยใช้ phenol red เป็น indicator ส่วนกรรทซาลีไซลิกทดสอบโดยทำให้เกิดสีม่วงกับ acid ferric ammonium sulfate เปรียบเทียบกับกรรทซาลีไซลิกมาตรฐาน สีเกิดจากการรวม ferric ion กับกรรทซาลีไซลิก (a bidentate ligand) เป็น metal chelate มี ligand - ferric ion ในสัดส่วน 1:1, 2:1, และ 3:1

วิธีนี้มีข้อเสียคือ ถ้ามี tannic acid, oxalic acid, citric acid และ tartaric acid อยู่ด้วยจะไปกบฏปฏิกิริยาการเกิด สีของ iron - salicylic acid เพราะว่าสารดังกล่าวมานี้สามารถเกิดสีกับ ferric ion ได้ วิธีแก้ไขก็โดยสกัดแอสไพรินและกรรทซาลีไซลิกออกมาก่อนด้วย ether แล้วจึงนำไปทำให้เกิดสี นอกจากนี้จำนวน alcohol

ใน cylinder ตัวอย่างและ cylinder มาตรฐานจะต้องเท่ากัน และจะต้องเปรียบเทียบสีในเวลาจำกัดเพราะแอสไพรินจะละลายตัวได้ วิธีนี้นำมาใช้ใน BP 1973 (21) ส่วนในเกณฑ์สำหรับของญี่ปุ่น (22) หรือหนังสือบางเล่ม (23) ใช้ sulfuric acid แทน hydrochloric acid และใช้ phenolph-thalein เป็น indicator แทน phenol red

2. Direct Titration

วิธีนี้จะละลายตัวอย่างใน alcohol แล้ว titrate หาปริมาณแอสไพรีนโดยตรงกับ sodium hydroxide ใช้ phenolphthalein เป็น indicator ส่วนการทดสอบหาปริมาณกรรชาลีไซลิก ทำโดยการนำตัวอย่างมาละลายใน alcohol กับน้ำแล้วทำให้เกิดสีกับ ferric chloride เปรียบเทียบกับกรรชาลีไซลิกมาตรฐาน วิธีนี้ถ้ามีกรรชาลีไซลิกน้อยกว่า 0.04% จะตรวจไม่ได้เพราะ ferric chloride มีสีในตัวเอง (24,25)

3. Non Aqueous Titration

วิธีนี้หาปริมาณของแอสไพรีนและกรรชาลีไซลิกโดยละลายใน dimethyl formamide แล้ว titrate ด้วย 0.1 N tetra butyl ammonium hydroxide ใน benzene-methanol (10:1) ใช้ a glass-calomel หรือ platinum - calomel electrode เป็นเครื่องวัด end point (26)

Spectrophotometry

1 UV Spectrophotometry

การใช้วิธี UV Spectrophotometry วิเคราะห์หาปริมาณแอสไพรีนและกรรชาลีไซลิกโดยใช้ chloroform AR เป็นสารละลาย ซึ่ง แอสไพรีนและกรรชาลีไซลิกจะให้อbsorbance สูงและคงตัวดีกว่าในน้ำหรือ alcohol ค่า λ_{max} สำหรับแอสไพรีนและกรรชาลีไซลิก พบที่ 278 และ 308 nm ตามลำดับ และความเข้มข้นที่ใช้ก็เป็นไปตาม Beer's law หลักการพำก้นำตัวอย่างมาละลายใน chloroform (ถ้าจำเป็นก็กรอง) นำไปวัดค่า absoroform ที่ 308 nm สำหรับกรรชาลีไซลิกแล้วเจือจางต่อไปอีก 100 เท่า ไปวัดค่า absorbance ที่ 278nm สำหรับแอสไพรีนจะหาปริมาณของสารทั้งสองได้ดังนี้

$$\text{aspirin (mg)} = 1347 A_1 - 2.3 A_2$$

$$\text{salicylic acid (mg)} = 3.58 A_2 - 3.49 A_1$$

เมื่อ A_1 และ A_2 ค่ายค่า absorbance ที่ 278 และ 308 nm ตามลำดับ

(27)

จากการเปลี่ยน solvent ที่ใช้เป็น Clark & Lube buffer pH 7.4 แอสไพรินและกรกซาลิไซลิกจะละลายได้นำไปอ่านค่า absorbance ที่ 262 และ 296.5 nm ตามลำดับวิธีนี้จะต้องทำในเวลาอันรวดเร็ว เพื่อป้องกันการเกิด hydrolysis (28) นอกจากนี้ยังได้มีการใช้ alcohol, acetic acid & buffer pH 7 เป็น solvent แทนโดยเปลี่ยน wavelength ที่ใช้ไปด้วย

อาจจะหาปริมาณแอสไพรินโดยการทำให้เกิดสีตาม Schoenemann Reaction แล้วนำมาวัดค่า absorbance ที่ 455 nm เปรียบเทียบกับมาตรฐานวิธีนี้จะไม่ถูกรบกวนโดยกรกซาลิไซลิกและยาตัวอื่น ๆ เพราะเป็นลักษณะของ reaction สำหรับ ester และ anhydride โดยเฉพาะเหมาะกับการใช้หาปริมาณของแอสไพรินที่มีหลายตัวอย่าง (29)

2 Fluorescence Method

จากการศึกษาถึงผลของ aliphatic carboxylic acid ที่ทำให้เกิด fluorescence emission ของแอสไพรินและกรกซาลิไซลิก พบว่าถ้าใช้ chloroform เพียงอย่างเดียวแอสไพรินจะให้ fluorescence น้อยมาก แต่ถ้ามี 1% acetic acid จะเพิ่มการ emission สูงขึ้นโดยการนำสารละลายที่ได้ไป excitation ที่ 280 nm แล้ววัด fluorescence ที่ 335 nm เปรียบเทียบกับมาตรฐาน (30)

ต่อมาได้ปรับปรุงเป็น a rapid fluometric method โดยใช้ formic acid แทน acetic acid ผู้ทำการทดลองกล่าวว่าเป็นวิธีที่สะดวก, เร็ว, ถูกต้อง และสามารถทดลองซ้ำได้ (31,32,33)



ง. วิธีอื่น ๆ

อาจจะแยก แอสไพริน และ ซาลิไซลิก แอซิด ออกจากกันโดย physical separation เช่นการใช้ solvent extraction เป็นต้น จากการทำงานของ Vietti - Michelina (34) ใช้ paper chromatographic หรือ paper electrophoretic แยกสารทั้งสองออกจากกันได้

มีอีกวิธีที่ไม่ค่อยจะได้ใช้ ในการวิเคราะห์ยา คือ Polarography ในปี 1949 Korshunov et al (35) ได้รายงานถึงการลดลงของ weak acid ที่ a dropping-mercury cathode, the half wave potential สำหรับแอสไพริน คือ 1.52 - 1.62 (ในความเข้มข้น 1 - 7m mole) และสำหรับ ซาลิไซลิก แอซิด คือ 1.66 - 1.83 (1 - 9m mole) ใน 0.05 N tetramethyl ammonium iodide ในปัจจุบันมีเครื่อง Polarograph ที่ไวมากกว่าอาจจะนำมาใช้ในการวิเคราะห์แอสไพริน product ให้มีประโยชน์มากขึ้น

Reimers (36) ใช้ TLC แยก แอสไพริน และ ซาลิไซลิก แอซิด ออกจากกัน โดย spot mixture บน plate ใช้ ascending technique และ solvent hexane, glacial acetic acid และ chloroform mixture (65 : 15 : 10) ใ้ค่า Rf ของแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกเท่ากับ 0.2 และ 0.35 ตามลำดับ แล้ว remove spot ออกจาก plate บรรจุใน cell นำไปหาปริมาณโดย UV reflectance spectroscopy .

การคัดแปลงใช้ IR spectroscopy หากความบริสุทธิ์ของ aspirin anhydride โดย Garret & Johnson (37) สรุปได้ว่ามีปริมาณกรดซาลิไซลิกน้อยมากจนคัดหึ่งได้แต่ไม่ไ้ทดสอบกับยาแอสไพรินสำเร็จรูป

จะเห็นว่าการหาปริมาณแอสไพริน และ กรดซาลิไซลิกในยาเม็ดแอสไพรินด้วย

วิธีต่าง ๆ ยังไม่มีวิธีที่ดีที่สุด เช่นการแยกด้วย column chromatography ก็เป็นวิธีที่
 นำเมื่อ. เสียเวลาต้องใช้ความชำนาญในการบรรจุ siliceous earth ให้สม่ำเสมอ
 และยิ่งจำกัดเวลาในการไล้ที่ตัวออกมากด้วยความเร็ว มิฉะนั้นแอสไพรินจะเกิดการ
 สลายตัวขึ้นภายใน column ใ้การใช้ GC ก็เป็นวิธีที่ใหม่ดี แต่ไม่คุ้มกับค่าใช้จ่าย
 ในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง และการทดสอบหาปริมาณของกรกษาลีโซลิก โดยการเปรียบเทียบ
 เทียบความเข้มของสีกับปริมาณของมาตรฐานที่เตรียมไว้ ก็อาจเกิดข้อผิดพลาดเกี่ยวกับสาย
 ตาโค และต้องดูในเวลาจำกัดเช่นกัน นอกจากนี้ก็มีวิธี UV Spectrophotometry และ
 fluorometry ซึ่งสามารถเลือกใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ ทั้ง aqueous และ non -
 aqueous แต่ก็ยังไม่ใช่วิธีที่ดีนัก จึงยังไม่ใ้ official ในเภสัชตำรับ

จึงคิดว่า วิธี IR Spectrophotometry น่าจะเป็นวิธีที่ง่ายและเสียค่าใช้จ่าย -
 อยู่น้อย ในการหาปริมาณของทั้งแอสไพริน และ กรกษาลีโซลิก ในขณะเดียวกัน เพราะ
 IR Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้คลื่นแสง ในช่วง infrared ซึ่งเป็น
 ส่วนหนึ่งของ electromagnetic spectrum มี wavelength อยู่ในช่วง 7×10^{-2} -
 830μ (หรือ wavenumber $1.42 \times 10^5 - 12 \text{ cm}^{-1}$) และมี physical
 interaction mechanism กับ molecule ของสารเป็น molecular vibration
 สารแต่ละ molecule จะ absorb energy ในแต่ละ wavelength
 ไม่เท่ากัน และจำนวน energy ที่ถูก absorb จะเป็นสัดส่วนกับจำนวน molecule
 ที่มีอยู่ เครื่องมือ IR Spectrophotometer ใช้หลักอันนี้บันทึก spectrum ออกมา
 ในรูปของ transmittance vs the frequency หรือ wavelength of the -
 radiation และ spectrum นี้เป็น fundamental property ของ molecule
 ใ้บอกลักษณะ sample หรือ หาปริมาณได้จาก intensity ของ band ซึ่งขึ้นอยู่กับ
 กับ chemical bond ของ molecule

พวก ketones, aldehydes, carboxylic acids, carboxylic esters,

lactones, acid halides, anhydrides, amides และ lactams จะแสดง -
 strong C = O stretching absorption band ในช่วง $1670 - 1540 \text{ cm}^{-1}$
 ($5.35 - 6.50 \text{ } \mu$) หรือเรียกว่าช่วง carbonyl แคะ group มีตำแหน่งคง
 ที่ มี intensity สูง และ ester band จะเกิดที่ frequency สูงกว่า carboxy-
 late band (3β)

ตามลักษณะ molecule ของแอสไพรินประกอบด้วย carboxylate และ -
 ester group ส่วนกรกชาติไซคลิกมี carboxylate group เท่านั้น จากความแตกต่าง
 ของลักษณะ molecule นี้ จะทำให้ spectrum ของสารทั้งสองต่างกันและถ้า
 intensity ของ band เป็นสัดส่วนกับปริมาณของสารที่มีอยู่ตาม Beer's law ก็
 จะสามารถหาปริมาณของสารทั้งสองได้

วิธีดำเนินการวิจัย หรือ แผนการวิจัย (Statement of Analysis)

ทำการเลือก solvent ที่สามารถละลายแอสไพริน และ กรกชาติไซคลิก ได้ก็
 ซึ่งไม่ควรจะมี absorbant peak ปรากฏอยู่ในช่วง wavenumber ที่จะใช้ในการ
 ทดลอง และสามารถใช้ได้กับ sodium chloride cell หลังจาก run spectrum
 แล้วจึงเลือกหา absorbant peak ที่เหมาะสม ที่สารทั้งสองต่างแสดง peak ที่มี
 intensity สูง เหมาะที่จะนำมาใช้ในการหาปริมาณต่อไป รวมถึงการเลือก -
 baseline ของ peak นั้นด้วย แล้วศึกษาการวิเคราะห์แอสไพริน และ กรกชาติไซคลิก
 เดี่ยว ๆ เกี่ยวกับความเข้มข้น เวลาที่ใช้ ความหนาของ cell ตลอดจนทดสอบ -
 ความแม่นยำของวิธีนี้ โดยการหา % recovery ของสารแต่ละตัว แล้วจึงทำการ
 ศึกษาหาวิธีวิเคราะห์สารแต่ละตัวในสารผสมที่เตรียมขึ้นจากสารทั้งสอง โดยการใช้
 absorbancy ratio technique แล้วนำวิธีที่ได้มาหาปริมาณของแอสไพรินและกรก
 ชาติไซคลิกในยาเม็ดเปรียบเทียบกับวิธี official ในเภสัชตำรับ ดูว่าจะมีสิ่งรบกวน
 กับการวิเคราะห์ยาเม็ดแอสไพรินโดยวิธีนี้หรือไม่

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยในครั้งนี้

ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์ยาเม็ดแอสไพรินเพิ่มขึ้นอีกวิธีหนึ่ง ซึ่งเป็นวิธีที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีทั่ว ๆ ไปอยู่หลายประการคือ สามารถหาปริมาณแอสไพรินและกรดซาลิไซลิกได้ในขณะเดียวกัน โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนในการแยกออก เป็นวิธีที่สะดวก ทำได้ง่าย - ประหยัดเวลาเพราะสามารถวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างได้ภายใน 10 นาที และเสียค่าใช้จ่ายน้อย เนื่องจากใช้ตัวยาและสารละลายจำนวนน้อย นอกจากนี้ ยังเป็นแนวทางในการใช้เครื่อง IR Spectrophotometer นี้ ไปวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาอื่น ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะใช้วิธีนี้ได้