บทที่ 2

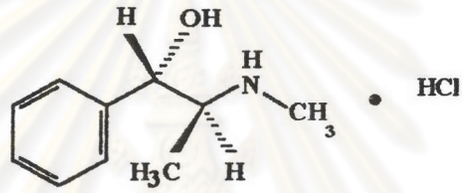
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์

1. สารเคมี

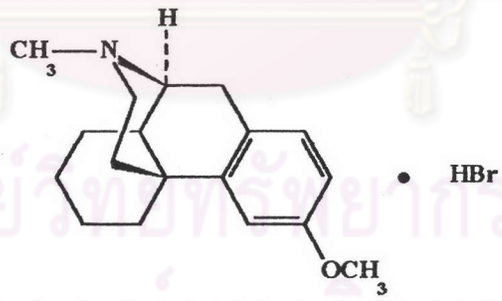
1.1 สารมาตรฐาน

1.1.1 ซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ (pseudoephedrine hydrochloride), SIGMA reference standard, Lot no. 80H5951, ร้อยละความบริสุทธิ์ 100.20



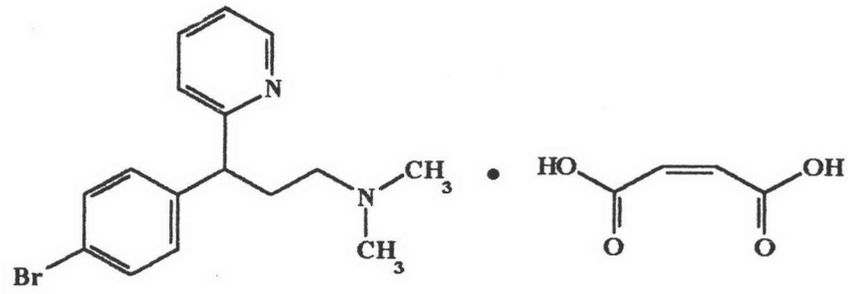
น้ำหนักโมเลกุล 201.7, สามารถละลายได้ดีในน้ำและเอทานอล (96%), พีเอชของสารละลาย (1 ใน 20) อยู่ระหว่าง 4.6 และ 6.0

1.1.2 เดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ (dextromethorphan hydrobromide), ASEAN reference standard, Lot no. T185019, ร้อยละความบริสุทธิ์ 99.8



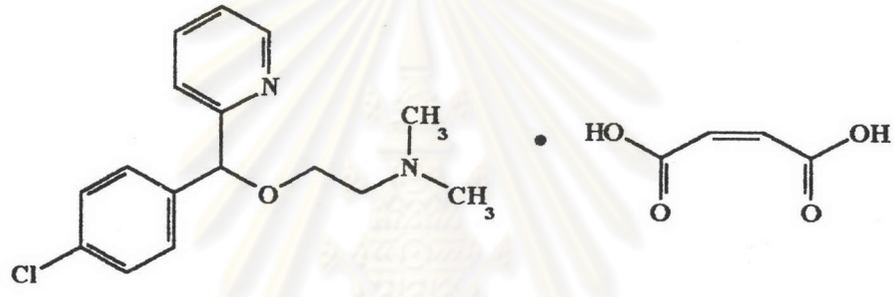
น้ำหนักโมเลกุล 352.32, ละลายในน้ำได้ประมาณร้อยละ 1.5 ที่อุณหภูมิ 25 °C, สารละลายในน้ำความเข้มข้น 1% มีค่าพีเอชระหว่าง 5.2 ถึง 6.5 ในสภาวะที่เป็นด่าง จะเกิดเป็นเบสอิสระซึ่งไม่ละลายในน้ำ

1.1.3 บรอมเฟนิรามีน มาลีเอต (brompheniramine maleate), working standard, Supriya Chemicals. Lot no. Sc/1x/144, ร้อยละความบริสุทธิ์ 99.53, ผลิตจากประเทศอินเดีย



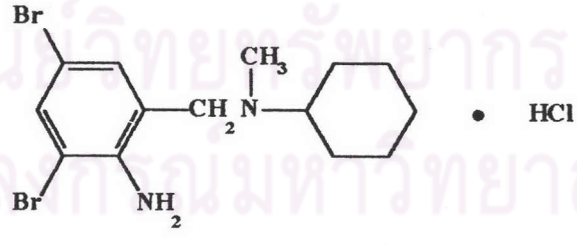
น้ำหนักโมเลกุล 435.3, ละลายได้ 1 ใน 5 ของน้ำ, 1 ใน 15 ของเอทานอล, พีเอชของสารละลายในน้ำ 2% มีค่าประมาณ 5

1.1.4 คาร์บิโนซามีน มาลีเอต (carbinoxamine maleate), working standard, Taisko Pharm. Lot no. 2Y120, ร้อยละความบริสุทธิ์ 100.29, ผลิตจากประเทศญี่ปุ่น



น้ำหนักโมเลกุล 406.9, ละลายได้ดีในน้ำและแอลกอฮอล์, พีเอชของสารละลายในน้ำ 1% อยู่ระหว่าง 4.6 และ 5.1

1.1.5 บรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ (bromhexine hydrochloride), working standard, Ertex Chemicals. Lot no. B94181, ร้อยละความบริสุทธิ์ 99.74, ผลิตจากประเทศฮ่องกง



น้ำหนักโมเลกุล 412.60, ละลายในน้ำหรือ 10% เอทานอลได้ 1 กรัมต่อ 250 มิลลิลิตร

1.2 <u>ยาตัวอย่าง</u> เภสัชภัณฑ์รูปแบบยาเม็ดที่ผลิตในประเทศ จำนวน 9 ตำรับ

1.3 สารเคมีอื่นๆ

1.3.1 กรดไฮโดรคลอริก เกรด AR (hydrochloric acid, HCl, AR; E. Merck, Darmstadt, Germany)

1.3.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ เกรด AR (sodium hydroxide, NaOH, AR ; E. Merck, Darmstadt, Germany)

2. เครื่องมือ

2.1 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer; Jasco Model 7800, Japan Spectroscopic Co., Ltd., Japan)

2.2 โปรแกรมสำเร็จรูปโลตัส 123 (Lotus 123 Release 2.1 และ 2.4; Lotus development corp., USA)

2.3 เครื่องไมโครคอมพิวเตอร์ (intel80486 DX2-66, Ram 4 Mbytes, Hard disk 250 Mbytes; Phonitex Personal Computer, Taiwan R.O.C)

2.4 เครื่องชั่งสำหรับการวิเคราะห์ (Metler B5H26, Switzerland)

ขั้นตอนและวิธีการ

ขั้นตอนที่ 1. การคัดเลือกเภสัชภัณฑ์ที่เป็นยาผสมของยาที่เป็นเอมีน

คัดเลือกเภสัชภัณฑ์รูปแบบยาเม็ดที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดเพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาด้วยวิธีอนุพันธ์สเปกโทรโฟโตเมตรี โดยพิจารณาจากการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและการใช้วิธีอนุพันธ์สเปกโทรโฟโตเมตรีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาผสมทั้งสอง

เภสัชภัณฑ์รูปแบบยาเม็ด 3 สูตรตำรับ จำนวน 9 ตำรับ มีดังนี้

สูตรตำรับที่ 1 ประกอบด้วยตัวยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต 4 มิลลิกรัม ผสมกับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ 60 มิลลิกรัม จำนวน 6 ตำรับ ได้แก่ ตำรับที่ 1 ก, 1 ข, 1 ค, 1 ง, 1 จ และ 1 ฉ

สูตรตำรับที่ 2 ประกอบด้วยตัวยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ 15 มิลลิกรัม ผสมกับบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ 8 มิลลิกรัม จำนวน 1 ตำรับ

สูตรตำรับที่ 3 ประกอบด้วยตัวยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต 6 มิลลิกรัม ผสมกับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ 60 มิลลิกรัม จำนวน 2 ตำรับ ได้แก่ ตำรับที่ 3 ก และ 3 ข

ขั้นตอนที่ 2. การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์เพื่อใช้กับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ไม่สามารถทำอนุพันธ์สเปกตรัม โดยใช้โปรแกรมทางคณิตศาสตร์ร่วมกับข้อมูลจากสเปกตรัมการดูดกลืนแสง

2.1 <u>การแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัม</u>

การที่จะแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้จากสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ไปเป็นอนุพันธ์สเปกตรัม ต้องใช้โปรแกรมทางคณิตศาสตร์ร่วมด้วย โดยโปรแกรมนั้นจะทำการคำนวณค่าอนุพันธ์ที่ตำแหน่งความยาวคลื่นแสงต่างๆ ทำการลดสัญญาณรบกวนที่เกิดขึ้น และแสดงกราฟของอนุพันธ์สเปกตรัมเพื่อนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณต่อไป

การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบอนุพันธ์สเปกตรัมที่ได้จากการแปลง 2 วิธี ได้แก่

ก. การคำนวณหาอนุพันธ์แล้วทำอนุพันธ์สเปกตรัมนั้นให้เรียบด้วยวิธีกำลังสองน้อยที่สุด หรือ least square (Savitzky และ Golay, 1964; Steiner, Termonia, และ Deltour, 1972)

ข. การคำนวณหาอนุพันธ์แล้วทำอนุพันธ์สเปกตรัมนั้นให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson หรือ Henderson's moving average (Henderson, 1961; Shiskin, Young, และ Musgrave, 1967; Kenny และ Durbin, 1982)

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. สูตรตำรับที่ 1 (ตัวยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต 4 มิลลิกรัม ผสมกับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ 60 มิลลิกรัม)

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำจำนวน 3 ชุด ๆ ละ 4 ตัวอย่าง (n=4) ได้แก่

ชุดที่ 1 ยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต ความเข้มข้น 3.2 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร (มก.%)

ชุดที่ 2 ยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 48.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 3 สารละลายผสมของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต กับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 3.2 และ 48.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.2 นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งหมด ไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วง 220 ถึง 300 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลความยาวคลื่นแสง (wavelength scale) เป็น 25 นาโนเมตรต่อเซนติเมตร และความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตรต่อนาที

1.3 แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่สอง โดยทำดังนี้

1.3.1 คำนวณหาค่าอนุพันธ์อันดับที่สอง ($\Delta^2A/\Delta\lambda^2$) ใช้ช่วงความยาวคลื่นแสง ($\Delta\lambda$) เป็น 0.5 นาโนเมตร

1.3.2 นำอนุพันธ์สเปกตรัมที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการทำให้เรียบ 2 วิธี ได้แก่ ก) วิธีกำลังสองน้อยที่สุดและ ข) วิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson โดยใช้ช่วงละ 7, 9 และ 11 ข้อมูล

1.4 วัดแอมพลิจูดตรงตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ของยาบรอมเฟนิรามีนมาลีเอตที่ประมาณ 241.5 นาโนเมตร และของยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ประมาณ 254.0 นาโนเมตร คำนวณร้อยละการกลับคืนของยาทั้งสองในสารละลายผสมชุดที่ 3 เทียบกับในยาเดี่ยวชุดที่ 1 และ 2

2. สูตรตำรับที่ 2 (ตัวยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ 15 มิลลิกรัม ผสมกับบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ 8 มิลลิกรัม)

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำจำนวน 3 ชุดๆ ละ 4 ตัวอย่าง (n=4) ได้แก่

ชุดที่ 1 ยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ ความเข้มข้น 11.2 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 2 ยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 3 สารละลายผสมของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์กับบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 11.2 และ 6.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งหมด ไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วง 220 ถึง 340 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลความยาวคลื่นแสง (wavelength scale) เป็น 25 นาโนเมตรต่อเซนติเมตร และความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตรต่อนาที

2.3 แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่หนึ่งโดยทำดังนี้

2.3.1 คำนวณหาค่าอนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง ($\Delta A/\Delta\lambda$) ใช้ช่วงความยาวคลื่นแสง ($\Delta\lambda$) เป็น 0.5 นาโนเมตร

2.3.2 นำอนุพันธ์สเปกตรัมที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการทำให้เรียบ 2 วิธี ได้แก่ วิธีกำลังสองน้อยที่สุดและวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson โดยใช้ช่วงละ 7, 9 และ 11 ข้อมูล

2.4 วัดแอมพลิจูดตรงตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ประมาณ 233.0 นาโนเมตรและของยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ประมาณ 326.0 นาโนเมตร คำนวณร้อยละการกลับคืนของยาทั้งสองในสารละลายผสมชุดที่ 3 เทียบกับในยาเดี่ยวชุดที่ 1 และ 2

3. สูตรตำรับที่ 3 (ตัวยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต 6 มิลลิกรัม ผสมกับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ 60 มิลลิกรัม)

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำจำนวน 3 ชุดๆ ละ 4 ตัวอย่าง (n=4) ได้แก่

ชุดที่ 1 ยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต ความเข้มข้น 3.8 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 2 ยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 38.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 3 สารละลายผสมของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต กับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 3.8 และ 38.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งหมด ไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วง 220 ถึง 300 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลความยาวคลื่นแสง (wavelength scale) เป็น 25 นาโนเมตรต่อเซนติเมตร และความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตรต่อนาที

3.3 แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่สอง โดยทำดังนี้

3.3.1 คำนวณหาค่าอนุพันธ์อันดับที่สอง ($\Delta^2A/\Delta\lambda^2$) ใช้ช่วงความยาวคลื่นแสง ($\Delta\lambda$) เป็น 0.5 นาโนเมตร

3.3.2 นำอนุพันธ์สเปกตรัมที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการทำให้เรียบ 2 วิธี ได้แก่ วิธีกำลังสองน้อยที่สุดและวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson โดยใช้ช่วงละ 7, 9 และ 11 ข้อมูล

3.4 วัดแอมพลิจูดตรงตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต ที่ประมาณ 241.5 นาโนเมตร และของยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ประมาณ 257.0 นาโนเมตร คำนวณร้อยละการกลับคืนของยาทั้งสองในสารละลายผสมชุดที่ 3 เทียบกับในยาเดี่ยวชุดที่ 1 และ 2

2.2 <u>ช่วงความยาวคลื่นแสงจากสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ใช้ในการคำนวณอนุพันธ์ที่จุดหนึ่ง ($\Delta\lambda$)</u>

ช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการคำนวณอนุพันธ์สเปกตรัมจะมีผลต่อสัญญาณรบกวนและลักษณะของอนุพันธ์สเปกตรัม โดยถ้าใช้ช่วงความยาวคลื่นที่น้อยเกินไปจะทำให้มีสัญญาณรบกวนเกิดขึ้นมาก แต่ถ้าช่วงความยาวคลื่นกว้างเกินไป อาจทำให้ลักษณะสเปกตรัมเปลี่ยนแปลงไปจากที่ควรจะเป็นและทำให้แอมพลิจูดลดลง การทดลองนี้จึงทำการเปลี่ยนแปลงช่วงความยาวคลื่นแสง โดยเลือกค่าที่สามารถกำหนดโดยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีใช้อยู่ทั่วๆ ไป แล้วพิจารณาช่วงความยาวคลื่นแสงที่ให้อนุพันธ์สเปกตรัมที่มีความเรียบสม่ำเสมอ และมีแอมพลิจูดสูงพอสำหรับใช้วิเคราะห์หาปริมาณได้

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของยาแต่ละตัวในน้ำ ความเข้มข้นที่เหมาะสม ดังต่อไปนี้

1.1 ยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต ความเข้มข้น 3.2 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.2 ยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 48.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.3 ยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ ความเข้มข้น 11.2 มิลลิกรัม ใน 100 มิลลิลิตร

1.4 ยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.5 ยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต ความเข้มข้น 3.8 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

2. นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งหมด ไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ในช่วง 220 ถึง 340 นาโนเมตร

3. แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงไปเป็นอนุพันธ์สเปกตรัม ดังนี้

3.1 คำนวณหาค่าอนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง (ยาเดกซ์โตรเมอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ และบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์) และอันดับที่สอง (ยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต, ซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์และยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต) โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 3 ค่า ได้แก่ 0.1, 0.5 และ 1.0 นาโนเมตร

3.2 ทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 ข้อมูล

4. พิจารณาลักษณะของอนุพันธ์สเปกตรัมของยาแต่ละตัว และทำการคัดเลือกช่วงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมที่สุดที่ให้สเปกตรัมที่มีความเรียบ และค่าแอมพลิจูดไม่ต่ำเกินไป

2.3 อันดับอนุพันธ์และตัวทำละลายที่เหมาะสม

การที่ชนิดของตัวทำละลายและพีเอช เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อสเปกตรัมการดูดกลืนแสงจึงส่งผลต่อลักษณะของอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับต่างๆ ด้วย อันดับของอนุพันธ์ที่เหมาะสม ควรเป็นอันดับที่สามารถแยกวิเคราะห์ตัวยาแต่ละตัวได้ดี มีแอมพลิจูดของยาที่ต้องการวิเคราะห์สูงพอและมีสัญญาณรบกวนน้อย

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของยาทั้งสองของแต่ละสูตรตำรับ โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ น้ำ, โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล และกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล ในความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ดังนี้

1.1 สูตรตำรับที่ 1

สารละลายของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และยาซูโดอีฟีดรีนไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 3.2 และ 48.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

1.2 สูตรตำรับที่ 2

สารละลายของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์และยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 11.2 และ 6.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

1.3 สูตรตำรับที่ 3

สารละลายของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และยาซูโดอีฟีดรีนไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 3.8 และ 38.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

2. นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งหมด ไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วง 220 ถึง 300 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตรต่อเซนติเมตร และความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตรต่อนาที

3. แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงไปเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับต่างๆ ดังนี้

3.1 คำนวณหาค่าอนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง $(\Delta A/\Delta\lambda)$ และอันดับที่สอง $(\Delta^2 A/\Delta\lambda^2)$ โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นแสง $(\Delta\lambda)$ เป็น 0.5 นาโนเมตร

3.2 ทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 ข้อมูล

4. เปรียบเทียบอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่หนึ่งและสองของยาทั้งสองของแต่ละสูตรตำรับในตัวทำละลายเดียวกัน (เริ่มจากอันดับที่หนึ่ง) เพื่อเลือกอันดับอนุพันธ์ที่เหมาะสมของแต่ละตัวทำละลาย โดยดูจากตำแหน่งความยาวคลื่นแสงที่มีแนวโน้มที่จะใช้ในการแยกวิเคราะห์ยาแต่ละตัวโดยไม่การรบกวนจากตัวยาร่วม และเป็นตำแหน่งที่มีแอมพลิจูดสูงพอ

5. เปรียบเทียบอนุพันธ์สเปกตรัมทั้งสามซึ่งได้จากข้อ 4 เพื่อเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมของแต่ละสูตรตำรับ โดยใช้เกณฑ์อันเดียวกัน

2.4 แอมพลิจูดที่ความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมสำหรับการคำนวณหาปริมาณ

แอมพลิจูดที่ความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการหาปริมาณสารของยาตัวหนึ่งอาจจะเป็นแอมพลิจูดที่วัดตรงตำแหน่งยอด โดยไม่มีอนุพันธ์สเปกตรัมของตัวยาร่วมรบกวนอยู่เลยหรือเป็นตำแหน่งที่อนุพันธ์สเปกตรัมของตัวยาร่วมนั้นตัดศูนย์พอดี

การศึกษานี้ได้ใช้วิธีวัดแอมพลิจูดตรงตำแหน่งตัดที่ศูนย์ แต่เนื่องจากอนุพันธ์สเปกตรัมของตัวยาหนึ่งสามารถทำให้เกิดตำแหน่งตัดที่ศูนย์ได้หลายตำแหน่ง จึงต้องทำการศึกษาเพื่อกำหนดตำแหน่งความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้หาปริมาณยาแต่ละตัว โดยพิจารณาจากแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ซึ่งควรมีค่าแอมพลิจูดสูงพอ ไม่มีการรบกวนจากตัวยาร่วม และมีความสัมพันธ์เป็นไปตามกฎของเบียร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำ สูตรตำรับละ 3 ชุดๆ ละ 4 ตัวอย่าง (n=4) ได้แก่

1.1 สูตรตำรับที่ 1 (ตัวยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต 4 มิลลิกรัม ผสมกับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ 60 มิลลิกรัม)

ชุดที่ 1 ยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต ความเข้มข้น 3.2 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 2 ยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 48.0 มิลลิกรัม ใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 3 สารละลายผสมของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอตกับซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 3.2 และ 48.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.2 สูตรตำรับที่ 2 (ตัวยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ 15 มิลลิกรัม ผสมกับบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ 8 มิลลิกรัม)

ชุดที่ 1 ยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ ความเข้มข้น 11.2 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 2 ยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัม ใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 3 สารละลายผสมของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ กับบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 11.2 และ 6.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.3 สูตรตำรับที่ 3 (ตัวยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต 6 มิลลิกรัม ผสมกับ ซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ 60 มิลลิกรัม)

ชุดที่ 1 ยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต ความเข้มข้น 3.8 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 2 ยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 38.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ชุดที่ 3 สารละลายผสมของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต กับ ซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 3.8 และ 38.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

2. นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งหมด ไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงใน ช่วง 220 ถึง 340 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตรต่อ เซนติเมตร และความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตรต่อนาที

3. แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงไปเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่สองโดยใช้ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร และทำให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson โดยใช้ช่วงละ 11 ข้อมูล

4. เปรียบเทียบอนุพันธ์สเปกตรัมของยาผสมและยาเดี่ยวในแต่ละสูตรตำรับ เพื่อเลือกตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาแต่ละชนิด โดยวัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ต่างๆ คำนวณค่าร้อยละการกลับคืนและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, %CV)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบความถูกต้องเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (Validation)

การทดสอบความถูกต้องเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์สำหรับยาแต่ละตำรับจะทำใน 4 หัวข้อ ดังต่อไปนี้

ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

ทำการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณยาทั้งสองในยาตัวอย่างซึ่งเป็นยาเม็ด โดยเตรียมยาตัวอย่างให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมจำนวน 10 ชุด แล้วคำนวณหาปริมาณตัวยาในรูปของปริมาณที่ระบุบนฉลาก โดยเทียบกับเส้นมาตรฐาน (standard curve) ทำการประเมินผลจากค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

วิธีการทดลอง

1. สูตรตำรับที่ 1

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำ 5 ความเข้มข้นๆ ละ 4 ชุด (n = 4) เพื่อนำไปทำเส้นมาตรฐาน โดยให้มีความเข้มข้นของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต อยู่ในช่วง 2.56 ถึง 3.84 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร และยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ อยู่ในช่วง 38.4 ถึง 57.6 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.2 เตรียมสารละลายของยาตัวอย่างซึ่งเป็นยาเม็ด ตำรับละ 10 ชุด (n=10)

1.2.1 ชั่งยาตัวอย่างจำนวน 20 เม็ด เพื่อหาน้ำหนักเฉลี่ยแล้วนำไปบดเป็นผงละเอียด

1.2.2 ชั่งผงยาให้มีตัวยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ประมาณ 1.6 และ 24.0 มิลลิกรัม ตามลำดับ

1.2.3 เติมน้ำเขย่าประมาณ 15 นาที แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

1.2.4 นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทิ้งสารละลายที่กรองได้ส่วนแรกแล้วนำส่วนที่เหลือไปเตรียมเป็นสารละลายของยาตัวอย่าง โดยมีความเข้มข้น

สุดท้ายของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ประมาณ 3.2 และ 48.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

1.3 สแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นแสง 236 ถึง 259 นาโนเมตร, ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลของความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตร/เซนติเมตร และความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตร/นาที

1.4 จากข้อมูลสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปแปลงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่สองโดยใช้โปรแกรมโลตัส 123 และทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 จุด

1.5 วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ที่ 241.5 และ 254.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

2. สูตรตำรับที่ 2

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำ 5 ความเข้มข้นๆ ละ 4 ชุด (n = 4) เพื่อนำไปทำเส้นมาตรฐาน โดยให้มีความเข้มข้นของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ อยู่ในช่วง 4.52 ถึง 6.76 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตรและยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ อยู่ในช่วง 4.89 ถึง 7.35 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

2.2 เตรียมสารละลายของยาตัวอย่างซึ่งเป็นยาเม็ด ตำรับละ 10 ชุด (n=10)

2.2.1 ชั่งยาตัวอย่างจำนวน 20 เม็ด เพื่อหาน้ำหนักเฉลี่ยแล้วนำไปบดเป็นผงละเอียด

2.2.2 ชั่งผงยาให้มีตัวยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ และยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ประมาณ 2.8 และ 3.0 มิลลิกรัม ตามลำดับ โดยชั่งแยกกัน

2.2.3 เติมน้ำเขย่าประมาณ 30 นาที แล้วปรับปริมาตร จนครบ 50 มิลลิลิตร

2.2.4 นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทิ้งสารละลายที่กรองได้ส่วนแรกแล้วนำส่วนที่เหลือไปเตรียมเป็นสารละลายของยาตัวอย่างโดยมีความเข้มข้นสุดท้ายของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์ และยาบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ ประมาณ 5.6 และ 6.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 สแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่นแสง 228 ถึง 238 นาโนเมตรและ 321 ถึง 331 นาโนเมตร, ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลของความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตร/เซนติเมตรและความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตร/นาที

2.4 จากข้อมูลสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปแปลงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่หนึ่งโดยใช้โปรแกรมโลตัส 123 และทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 จุด

2.5 วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์และบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 232.9 และ 326.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

3. สูตรตำรับที่ 3

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานในน้ำ 5 ความเข้มข้นๆ ละ 4 ชุด (n = 4) เพื่อนำไปทำเส้นมาตรฐาน โดยให้มีความเข้มข้นของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต อยู่ในช่วง 3.03 ถึง 4.57 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร และยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ อยู่ในช่วง 30.41 ถึง 45.62 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

3.2 เตรียมสารละลายของยาตัวอย่างซึ่งเป็นยาเม็ด ตำรับละ 10 ชุด (n=10)

3.2.1 ชั่งยาตัวอย่างจำนวน 20 เม็ด เพื่อหาน้ำหนักเฉลี่ยแล้วนำไปบดเป็นผงละเอียด

3.2.2 ชั่งผงยาให้มีตัวยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ประมาณ 1.9 และ 19.0 มิลลิกรัม ตามลำดับ

3.2.3 เติมน้ำเขย่าประมาณ 15 นาที แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

3.2.4 นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทิ้งสารละลายที่กรองได้ส่วนแรกแล้วนำส่วนที่เหลือไปเตรียมเป็นสารละลายของยาตัวอย่าง โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และยาซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ประมาณ 3.8 และ 38.0 มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 สแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่นแสง 236 ถึง 262 นาโนเมตร, ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร โดยตั้งค่าสเกลของความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตร/เซนติเมตรและความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตร/นาที

3.4 จากข้อมูลสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปแปลงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่สองโดยใช้โปรแกรมโลตัส 123 และทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 จุด

3.5 วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ที่ 241.5 และ 257.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

4. ทำการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนจากปริมาณที่ระบุบนฉลาก ดังนี้

4.1 นำค่าแอมพลิจูดของยาตัวอย่างไปคำนวณหาปริมาณโดยเทียบกับเส้นมาตรฐาน ดังสมการ

$$x = (y-b)/a \qquad \text{.....} \qquad (3)$$

เมื่อ x คือ ปริมาณยาที่พบ (มิลลิกรัมใน 100 มิลลิลิตร)

y คือ แอมพลิจูด (เซนติเมตร)

a และ b คือ ค่าความชันและระยะตัดแกน y ของเส้นมาตรฐาน จากการทำการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น

4.2 นำค่า x ไปคำนวณเป็นปริมาณที่ระบุบนฉลาก

4.3 คำนวณหาค่าเฉลี่ย และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของค่าปริมาณที่ระบุบนฉลาก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

ทดสอบโดยใช้วิธีการเติมสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณลงในสารละลายของยาตัวอย่าง (Method of Standard Addition) โดยเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นสุดท้ายแตกต่างกัน 6 ความเข้มข้น ทั้งหมดมีปริมาณยาตัวอย่างคงที่ ต่างกันที่ปริมาณสารมาตรฐานที่เติมลงไป ทำการวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้วิธีอนุพันธ์สเปกโตรโฟโตเมตรี แล้วคำนวณค่าร้อยละการกลับคืนของสารมาตรฐานจากสมการ

$$\% \text{ Recovery} = [(\text{amount found})/(\text{amount added})] \times 100 \quad \ldots\ldots\ldots (4)$$

เมื่อ amount added คือ ปริมาณของสารมาตรฐานที่เติมลงไป

amount found คือ ปริมาณของสารมาตรฐานที่ตรวจพบโดยเทียบกับเส้นมาตรฐาน

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของยาผสมแต่ละสูตร ความเข้มข้นต่างๆ กัน 5 ความเข้มข้น (n = 4) เพื่อนำไปทำเส้นมาตรฐาน

2. เตรียมสารละลายจำนวน 6 ชุด (n=4) ให้มีปริมาณของยาตัวอย่างคงที่ แต่เปลี่ยนแปลงปริมาณของสารมาตรฐานที่เติมลงไป โดยทำการทดสอบทั้งสองตัวยา ดังต่อไปนี้

ชุดที่ 1 สารละลายของยาตัวอย่าง เตรียมให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของยาแต่ละตัว (คำนวณตามฉลาก) เป็น 70% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 2 สารละลายของยาตัวอย่างเท่ากับชุดแรก และเติมสารมาตรฐานของยาที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 3 สารละลายของยาตัวอย่างเท่ากับชุดแรก และเติมสารมาตรฐานของยาที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 20% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 4 สารละลายของยาตัวอย่างเท่ากับชุดแรก และเติมสารมาตรฐานของยาที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 30% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 5 สารละลายของยาตัวอย่างเท่ากับชุดแรก และเติมสารมาตรฐานของยาที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 40% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 6 สารละลายของยาตัวอย่างเท่ากับชุดแรก และเติมสารมาตรฐานของยาที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 50% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

3. นำสารละลายที่ได้ไปสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมสำหรับยาแต่ละสูตรตำรับ, ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร ทำการตั้งค่าสเกลของความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตร/เซนติเมตรและความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตร/นาที

4. จากข้อมูลสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปแปลงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่หนึ่งและสองโดยใช้โปรแกรมโลตัส 123 และทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 จุด

5. วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาแต่ละตัว ดังนี้

5.1 สูตรตำรับที่ 1 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และของยาซูโดอีฟีดรีนไฮโดรคลอไรด์ที่ 241.5 และ 254.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

5.2 สูตรตำรับที่ 2 (อนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์และบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 232.9 และ 326.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

5.3 สูตรตำรับที่ 3 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ที่ 241.5 และ 257.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

6. คำนวณร้อยละการกลับคืนของสารมาตรฐานที่เติมลงไป ดังนี้

6.1 คำนวณหาปริมาณของตัวยาทั้งหมด ที่อยู่ในสารละลายของแต่ละชุดจากค่าแอมพลิจูดเฉลี่ย โดยเทียบกับเส้นมาตรฐาน

6.2 หาร้อยละการกลับคืนของสารมาตรฐานในแต่ละชุด จากค่าปริมาณสารมาตรฐานที่พบและปริมาณสารมาตรฐานที่เติมลงไป

ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ (Linearity and range)

ทำการทดลองหาความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง ระหว่างความเข้มข้นของยาแต่ละตัวในยาตัวอย่างกับแอมพลิจูดตรงตำแหน่งตัดที่ศูนย์ โดยทำการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression Analysis) แล้วประเมินผลจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of Determination, r^2) และระยะตัดแกน Y

วิธีการทดลองหาความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

1. เตรียมสารละลายของยาตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นของตัวยาแตกต่างกัน 5 ความเข้มข้น (n = 4) โดยคำนวณจากปริมาณที่ระบุบนฉลาก

2. นำสารละลายที่ได้ไปทำสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร ตั้งค่าสเกลของความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตร/เซนติเมตรและความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตร/นาที

3. นำข้อมูลสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้ ไปแปลงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่หนึ่งและสองโดยใช้โปรแกรมโลตัส 123 และทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 จุด

4. วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาแต่ละตัว ดังนี้

4.1 สูตรตำรับที่ 1 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 241.5 และ 254.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

4.2 สูตรตำรับที่ 2 (อนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์และบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 232.9 และ 326.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

4.3 สูตรตำรับที่ 3 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ที่ 241.5 และ 257.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

5. ทำการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของตัวยาในยาตัวอย่างกับแอมพลิจูด โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจและระยะตัดแกน Y

สำหรับช่วงการวิเคราะห์จะได้จากการพิสูจน์ว่า วิธีวิเคราะห์ที่ทำการศึกษาอยู่ให้ผลการทดสอบความเที่ยงตรง, ความถูกต้องและความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงที่สามารถยอมรับได้เมื่อนำไปใช้กับการวิเคราะห์ยาตัวอย่างซึ่งประกอบด้วยตัวยาในระดับความเข้มข้นที่อยู่ในช่วงที่วิเคราะห์นี้

ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity)

เพื่อทดสอบถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ในการตรวจพบอย่างถูกต้องและจำเพาะเจาะจงกับยาที่ต้องการวิเคราะห์โดยไม่ถูกรบกวนจากตัวยาร่วม โดยการทดลองนี้ได้แบ่งการทดสอบเป็น 2 ส่วน ได้แก่

ก. ความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์ยาแต่ละตัวจากตัวยาร่วมที่เตรียมจากสารละลายมาตรฐาน

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลายผสมของยาแต่ละสูตรรวม 3 ชุด โดยให้มียาตัวหนึ่งคงที่แต่เปลี่ยนแปลงปริมาณของตัวยาร่วมเป็น 3 ระดับความเข้มข้น (แล้วทำสลับกัน) ดังต่อไปนี้

ชุดที่ 1 สารละลายของตัวยาที่ต้องการวิเคราะห์และตัวยาร่วม เตรียมให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของยาแต่ละตัวเป็น 80% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 2 สารละลายของตัวยาที่ต้องการวิเคราะห์เท่ากับชุดแรก และตัวยาร่วมซึ่งเตรียมให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับค่าที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 3 สารละลายของตัวยาที่ต้องการวิเคราะห์เท่ากับชุดแรก และตัวยาร่วมซึ่งเตรียมให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 120% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

2. นำสารละลายที่ได้ทั้ง 3 ชุดไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร ตั้งค่าสเกลของความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตร/เซนติเมตรและความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตร/นาที

3. แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่หนึ่งและสอง โดยใช้โปรแกรมโลตัส 123 และทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 จุด

4. วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาแต่ละตัว ดังนี้

4.1 สูตรตำรับที่ 1 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 241.5 และ 254.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

4.2 สูตรตำรับที่ 2 (อนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์และบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 232.9 และ 326.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

4.3 สูตรตำรับที่ 3 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ที่ 241.5 และ 257.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

5. คำนวณค่าร้อยละการกลับคืนของตัวยาที่ต้องวิเคราะห์ในสารละลายชุดที่ 2 และ 3 โดยเทียบกับแอมพลิจูดของสารละลายชุดที่ 1

ข. ความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์ยาแต่ละตัวในยาตัวอย่าง

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลายเป็น 3 ชุด ดังต่อไปนี้

ชุดที่ 1 สารละลายของยาตัวอย่าง เตรียมให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของยาแต่ละตัว (คำนวณตามฉลากของแต่ละตำรับ) เป็น 80% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 2 สารละลายของยาตัวอย่างเท่ากับชุดแรก และเติมสารมาตรฐานของตัวยาร่วม ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 20% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

ชุดที่ 3 สารละลายของยาตัวอย่างเท่ากับชุดแรก และเติมสารมาตรฐานของตัวยาร่วม ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 40% ของค่าความเข้มข้นที่กึ่งกลางช่วงที่เลือกใช้

I 17020177

2. นำสารละลายทั้ง 3 ชุด ไปทำการสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ช่วงความยาวคลื่นแสงเป็น 0.5 นาโนเมตร ตั้งค่าสเกลของความยาวคลื่นแสงเป็น 25 นาโนเมตร/เซนติเมตรและความเร็วในการสแกนเป็น 240 มิลลิเมตร/นาที

3. แปลงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นอนุพันธ์สเปกตรัมอันดับที่สอง โดยใช้โปรแกรมโลตัส 123 และทำสเปกตรัมที่ได้ให้เรียบด้วยวิธีเฉลี่ยเคลื่อนที่ของ Henderson ช่วงละ 11 จุด

4. วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาแต่ละตัว ดังนี้

4.1 สูตรตำรับที่ 1 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดของยาบรอมเฟนิรามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 241.5 และ 254.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

4.2 สูตรตำรับที่ 2 (อนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ ของยาเดกซ์โตรเมทอร์แฟน ไฮโดรโบรไมด์และบรอมเฮกซีน ไฮโดรคลอไรด์ที่ 232.9 และ 326.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

4.3 สูตรตำรับที่ 3 (อนุพันธ์อันดับที่สอง)

วัดแอมพลิจูดที่ตำแหน่งตัดที่ศูนย์ของยาคาร์บิโนซามีน มาลีเอต และซูโดอีฟีดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ที่ 241.5 และ 257.0 นาโนเมตร ตามลำดับ

5. คำนวณค่าร้อยละการกลับคืนของตัวยาที่ต้องวิเคราะห์ในสารละลายชุดที่ 2 และ 3 โดยเทียบกับแอมพลิจูดของสารละลายชุดที่ 1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย