

การศึกษาความคงสภาพของอะเซิตตาโซลามายด์ ในรูปแบบยาเตรียมเฉพาะคราวของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

วรรณכל เชื้อมงคล^{1*}, ชญานิศ ศรชัยธวัชวงศ์^{1*}, ลักพิกา เชียงเถียร¹, วรรณิกา ทองสอง¹

บทคัดย่อ

การศึกษาความคงสภาพของอะเซิตตาโซลามายด์ในรูปแบบยาเตรียมเฉพาะคราวของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

วรรณכל เชื้อมงคล^{1*}, ชญานิศ ศรชัยธวัชวงศ์^{1*}, ลักพิกา เชียงเถียร¹, วรรณิกา ทองสอง¹

ว. เกษตรศาสตร์อีสาน 2556; 9(3) : 123-131

Received : 11 July 2013

Accepted : 16 September 2013

บทนำ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบหาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวอะเซิตตาโซลามายด์ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ความแรง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เก็บในขวดสีชาที่สภาวะอุณหภูมิต่างๆ **วัสดุและวิธีการทดลอง:** ทดสอบความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีในสภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิตู้เย็น (2-8 องศาเซลเซียส), อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิเร่ง (45 องศาเซลเซียส) โดยทำการทดสอบในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28 และ 42 ซึ่งความคงสภาพทางกายภาพประเมินจากสีของตำรับยา และการกระจายตัวของผงยาเมื่อเขย่า ส่วนความคงสภาพทางเคมีพิจารณาจากค่าความเป็นกรด-ด่าง และวิเคราะห์ร้อยละปริมาณตัวยาคงเหลือในตำรับยา ด้วยวิธี reversed phase HPLC โดยค่าที่ยอมรับได้ควรอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 ของปริมาณตัวยาเริ่มต้น **ผลการทดลอง:** จากการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ทุกสภาวะของการทดสอบตลอดระยะเวลาที่ศึกษา ส่วนการทดสอบความคงสภาพทางเคมี เมื่อพิจารณาจากค่าความเป็นกรด-ด่าง ของยาพบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ความเป็นกรด-ด่าง ของยาทุกสภาวะตลอดช่วงเวลาที่ใช้ทดสอบเช่นกัน สำหรับการวิเคราะห์ ร้อยละปริมาณตัวยาคงเหลือในตำรับยา ด้วยวิธี HPLC พบว่ายาเตรียมเฉพาะคราว อะเซิตตาโซลามายด์ ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) และตู้เย็น (2-8 องศาเซลเซียส) พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 ตลอดระยะเวลา 42 วันที่ใช้ทดสอบ ส่วนที่อุณหภูมิเร่ง (45 องศาเซลเซียส) มี ร้อยละปริมาณตัวยาคงเหลือในตำรับยาอยู่ในช่วง 90-110 เป็นเวลา 28 วันและมีปริมาณตัวยาลดลงน้อยกว่าร้อยละ 90 ในวันที่ 42 ของการทดสอบ **สรุปผล:** ยาเตรียมเฉพาะคราว อะเซิตตาโซลามายด์ รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ความแรง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องหรือตู้เย็นได้เป็นเวลา 42 วันโดยที่ยายังคงมีความแรงตามเกณฑ์

คำสำคัญ: อะเซิตตาโซลามายด์, ยาเตรียมเฉพาะคราว, ยาน้ำแขวนตะกอน, ความคงสภาพ

¹ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ อ.องครักษ์ จ.นครนายก

* ติดต่อผู้พิมพ์: e-mail: wannakon@swu.ac.th; chayanid@swu.ac.th

Abstract

The Stability Assessment of Extemporaneous Preparations of Acetazolamide of The Queen Sirikit National Institute of Child Health (QSNICH)

Wannakon chuemongkon^{1*}, Chayanid Sornchaithawatwong^{1*}, Labhpika Chiangthien¹, Wonnipa Thongsong¹
IJPS, 2013; 9(3) : 123-131

Introduction: The study determined physical and chemical stability of extemporaneous preparations of acetazolamide suspension (10 mg/ml) in light-resistant containers. **Materials and Methods:** All acetazolamide suspensions were randomly sampled and stored at refrigerated temperature (2-8°C), room temperature (25-28°C) or accelerated temperature (45°C). The changes in physical characteristics such as color and reversible precipitation of suspensions were determined. The chemical characteristics were measured by pH value and the remaining drug contents analyzed using reversed phase HPLC at 0, 7, 14, 21, 28 and 42 days. The acceptable range of remaining drug content was 90-110% of the initial content. **Results:** It was found that physical characteristics and pH of extemporaneous preparations of acetazolamide were unchanged at all conditions on keeping for 42 days. Drug contents remaining at room temperature (25-28°C) and refrigerated temperature (2-8°C) were in the acceptable range through to 42 days. At accelerated temperature (45°C), drug remaining in all suspensions was in the acceptable range for 28 days and then decreased less than 90% of the initial content. **Conclusion:** The extemporaneous preparations of acetazolamide can be kept at room temperature (25-28°C) or refrigerated temperature (2-8°C) in light-resistant containers for at least 42 days with no significant change.

Keywords: acetazolamide, extemporaneous preparations, suspensions, stability

¹ Faculty of Pharmacy, Srinakarinwirot University, Nakhonnayok, Thailand

* **Corresponding author:** e-mail: wannakon@swu.ac.th; chayanid@swu.ac.th

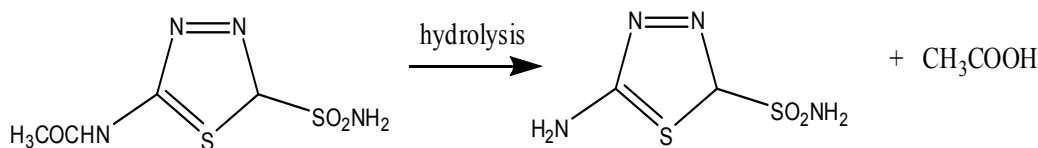
บทนำ

อะเซตตาโซลามาอิด (acetazolamide) เป็นยาที่ออกฤทธิ์เป็น carbonic anhydrase inhibitor มีผลควบคุมการหลั่งของเหลวในร่างกายและเพิ่มการขับถ่ายปัสสาวะในกรณีที่มีการคั่งของของเหลวอย่างผิดปกติ และได้มีการนำ acetazolamide มาใช้ในเด็กเพื่อรักษาภาวะบวมในโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบโดยมีผลลดการสร้าง cerebrospinal fluid (CSF) ที่ผิดปกติ (Batzdorf, 1976) รักษาโรคต้อหินโดยมีผลลดการสร้าง aqueous humor ทำให้ความดันในลูกตาลดลง (Sabri and Levin, 2006) ลดภาวะบวมในโรคหัวใจล้มเหลว และรักษาอาการชักบางชนิดที่มีอาการบวมของหูชั้นในร่วมด้วย เป็นต้น แต่การใช้ในเด็กพบปัญหาความไม่สะดวกในการบริหารยา เนื่องจากผลิตภัณฑ์ acetazolamide ในประเทศไทยมีจำหน่ายเฉพาะรูปแบบยาเม็ดเท่านั้น จึง

ได้มีการเตรียมในรูปแบบยาเตรียมเฉพาะคราว (extemporaneous preparations) ขึ้น เป็นยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide ในรูปแบบยาน้ำเชื่อมแขวนตะกอน เพื่อแก้ไขปัญหาการบริหารยาในเด็ก สูตรตำรับที่เตรียมขึ้นของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide ไม่มีสูตรมาตรฐานกำหนดไว้ชัดเจนในเภสัชตำรับต่างๆ แต่เป็นการพัฒนาขึ้นมาตามหลักการทางเภสัชกรรมโดยเภสัชกรโรงพยาบาลเพื่อใช้เฉพาะคราวในระยะเวลสั้นๆ การเตรียมยาในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนนั้นอาจเกิดปัญหาความไม่คงตัวของยาเตรียมเฉพาะคราวที่เตรียมขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งส่งผลให้ยาไม่มีประสิทธิภาพในการรักษาถ้ามีปริมาณตัวยาสาคัญลดลงมากกว่า 10% เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น

acetazolamide สลายตัวได้ง่ายในสภาวะที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 1-3 และ 8-12 และเกิดปฏิกิริยา

hydrolysis ได้ในสภาวะที่เป็นด่าง โดยเปลี่ยน กลุ่มอไมด์
ของยา ไปเป็น กลุ่มเอมีน (5-อะมิโน-1,3,4-thiadiazole-
2-sulfonamide) และกรดอะซิติก ดังรูปที่ 1 โดยปฏิกิริยา
ดังกล่าวจะเกิดได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีแสง หรือความร้อน
เป็นตัวกระตุ้น (Alexander *et al.*, 1991) สารกลุ่มเอมีนที่
เกิดขึ้นจากการเสื่อมสลายนั้น แม้ยังไม่พบข้อมูลว่ามีผลไม่
พึงประสงค์หรือมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างไร แต่ถือว่าเป็น
สารปนเปื้อนที่ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นในยาเตรียมเฉพาะคราว



รูปที่ 1 ปฏิกิริยา hydrolysis ของ acetazolamide ที่สภาวะต่าง

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะ
คราวอะเซตาดิโซลามายด์ ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติ
มหาราชินีที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

วิธีดำเนินการวิจัย

ยาและสารเคมี

สารมาตรฐาน acetazolamide (Sigma
Aldrich[®], USA), sodium dihydrogenorthophosphate
(NaH₂PO₄·2H₂O) (Univar[®], Australia), acetonitrile HPLC
grade (RCI LAB SCAN[®], Thailand) ยาเม็ด acetazolamide
(Diamox[®]) ขนาด 250 มก.ต่อเม็ด และน้ำกระสายยาสูตร 1
ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี สำหรับตำรับยา
เตรียมพิเศษเฉพาะคราว acetazolamide

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

High performance liquid chromatography
(HPLC) with autosampler (SpectraSYMTEM[®] รุ่น
AS3000 ของบริษัท Thermo separation product, USA),
Detector (SpectraSYMTEM[®] รุ่น UV 1000 ของบริษัท
Thermo separation product, USA), column (Thermo[®]
BDS Hypersil C18, 250 mm x 4.60 mm, 5 µm, USA), hot

ดังนั้นจึงมีจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาความคงสภาพ
ของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide โดยข้อมูลที่ได้
จากการวิจัยครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้ในการกำหนดอายุของ
ยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รวมถึงศึกษาสภาวะ
ที่เหมาะสมในการเก็บยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide
เพื่อให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้ป่วย นอกจากนี้ยังช่วยในการ
บริหารยาให้ผู้ป่วยได้ง่ายขึ้นอีกด้วย

air oven (Contherm[®], New Zealand), ตู้เย็น (National[®] รุ่น
NR-b53d1, Thailand), เครื่อง ultrapure water (MAXIMA[®],
England), เครื่องชั่ง (Satorius[®], รุ่น AC2115, Germany),
pH meter (ORION[®] model 320, USA)

วิธีการศึกษาวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการ วิเคราะห์ acetazolamide

1.1 เตรียม standard stock solution ของ
acetazolamide ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้ว
ปิเปตมา 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย mobile phase
ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตรได้ความเข้มข้น 100
ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการศึกษาการตรวจสอบความ
ถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

1.2 เตรียม phosphate buffer pH 3 โดย
ชั่งสาร disodium hydrogen orthophosphate ปริมาณ 1.56
กรัมละลายด้วย ultrapure water แล้วปรับ pH ด้วย กรด
H₃PO₄ และ NaOH จนได้ pH 3

1.3 ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ
mobile phase คือ phosphate buffer pH 3 : acetonitrile
เท่ากับ 60:40, 70:30 และ 80:20

2. การศึกษา system suitability (The USP 31 & NF 26, 2008)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน acetazolamide 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยฉีดซ้ำจำนวน 6 ครั้ง คำนวณค่า plate number (N), capacity factor (k'), tailing factor และ % relative standard deviation (% RSD) ของ peak area (PA) และ retention time (t_R) โดยค่าที่ยอมรับได้ของ plate number (N) ควรมีค่ามากกว่า 2000, capacity factor (k') ควรมีค่าอยู่ในช่วง 2-20, tailing factor ควรมีค่าน้อยกว่า 2 และ % relative standard deviation (% RSD) ของ peak area (PA) และ retention time (t_R) ควรมีค่าน้อยกว่า 1%

3. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) (ICH, 1996)

3.1 ความเฉพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (specificity) โดยวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน acetazolamide เทียบกับองค์ประกอบอื่นๆ ในน้ำกระสายยาว่าสามารถแยกออกจากกันได้โดยวิธี HPLC

3.2 ความสัมพันธ์อย่างเป็นเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ (linearity and range) เตรียมสารมาตรฐาน acetazolamide 10-50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ทำ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง peak area และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน acetazolamide โดยค่า R^2 ควรมากกว่า 0.995

3.3 ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ (intra-day precision and inter-day precision)

- intra-day precision วิเคราะห์สารละลาย acetazolamide ความเข้มข้น 10, 30 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และคำนวณค่า %RSD ค่าที่ยอมรับได้คือ %RSD ควรมีค่าน้อยกว่า 2%

- inter-day precision วิเคราะห์สารละลาย acetazolamide ความเข้มข้น 10, 30 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 วัน และคำนวณค่า %RSD ค่าที่ยอมรับได้คือ %RSD ควรมีค่าน้อยกว่า 5%

3.4 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) นำสารละลาย acetazolamide ความเข้มข้น 10, 30 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วย HPLC โดยทำ 3 ซ้ำ และคำนวณ % recovery โดยเกณฑ์มาตรฐานควรอยู่ในช่วง 90%-110%

3.5 ปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ) เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลาย acetazolamide แล้วพิจารณาความเข้มข้นที่ให้ค่า signal-to-noise เท่ากับ 10:1

4. การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide

4.1 การเตรียมยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (ความแรง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เตรียมโดยการบดเม็ดยา acetazolamide 250 มิลลิกรัม ใส่ในขวดสีชา เติมน้ำกระสายยาสูตร 1 ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินีจนมีปริมาตรครบ 25 มิลลิลิตร โดยสูตรตำรับของน้ำกระสายยาสูตร 1 เป็นดังนี้

สูตรตำรับของน้ำกระสายยาสูตร 1 ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

CMC mucilage	14	มิลลิลิตร
70 % sorbitol	20	มิลลิลิตร
Water	5	มิลลิลิตร
10% MP+ 2% PP in PG	0.8	มิลลิลิตร
syrup qs to	100	มิลลิลิตร

4.2 สภาวะที่ใช้ในการทดสอบความคงสภาพ นำขวดยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เก็บที่สภาวะอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 อุณหภูมิ วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ ได้แก่ อุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C), อุณหภูมิห้อง (25-28°C) และอุณหภูมิเร่ง (45°C) สภาวะละ 3 ตัวอย่างโดยวันที่ผสมยานับเป็นวันแรก (day 0)

4.3 การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน โดยความคงสภาพทางกายภาพ พิจารณาจากการสังเกตสีและการกระจายตัวของผงยาเมื่อเขย่า ส่วนความคงสภาพทางเคมี พิจารณาจากค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวิเคราะห์ร้อยละปริมาณยาหลงเหลือ (% remaining) โดยทดสอบวันที่ 7, 14, 21, 28 และ 42 เทียบกับวันแรก

4.4 การวิเคราะห์หาร้อยละปริมาณยา acetazolamide ที่เหลือ (% remaining) นำยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนมาเขย่าเพื่อให้ผงยากระจายตัวได้ดี แล้วจึงเปิดมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วย mobile phase จนครบ (800 ไมโครกรัม/มล.) จากนั้นเปิด

สารละลายมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มล. เติม mobile phase ประมาณ 10 มล. แล้วนำไป sonicate ปรับปริมาตรด้วย mobile phase จนครบ (32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นำไปกรองผ่าน 0.45 μm nylon syringe filter แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย reversed phase HPLC คำนวณหาร้อยละปริมาณยา acetazolamide ที่คงเหลือ (% remaining) ในวันที่ 7, 14, 21, 28 และ 42 เทียบกับวันแรก โดยค่าที่ยอมรับได้ควรอยู่ในช่วง 90-110% ของปริมาณยา เริ่มต้น (The USP 31 & NF 26, 2008)

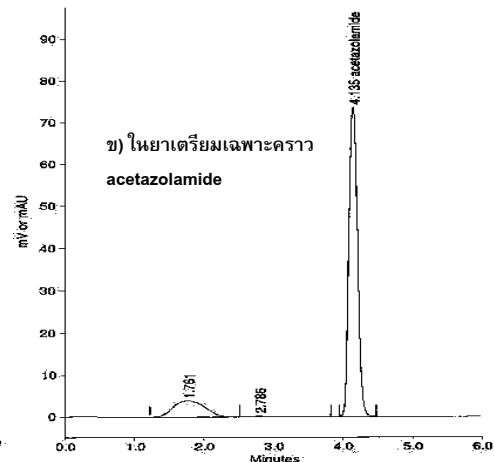
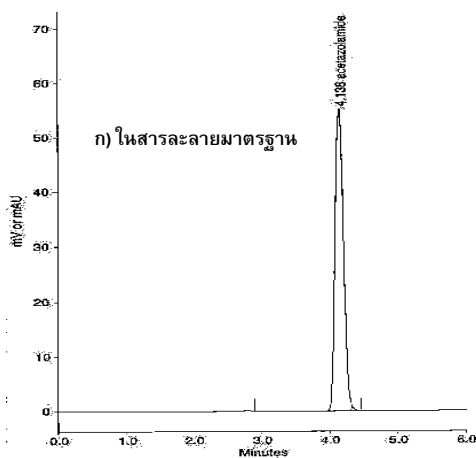
การวิเคราะห์ข้อมูลและการนำเสนอข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาสำหรับ ผลลัพธ์การศึกษาต่างๆ แสดงในรูปร้อยละ ค่าเฉลี่ยและส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน สำหรับการศึกษา system suitability และ method validation จะวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้โดยเปรียบ เทียบกับมาตรฐานตามเกณฑ์ The USP 31 & NF 26, 2008 และ ICH, 1996 ตามลำดับ

ผลการศึกษาวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการ วิเคราะห์ยา acetazolamide

ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค reversed phase HPLC นี้ พบว่าอัตราส่วน mobile phase ที่ทำให้ peak ของ acetazolamide แยกกับ solvent front ได้ดี คือ อัตราส่วน 80 : 20 (phosphate buffer pH 3 : acetonitrile) นอกจากนี้ ยังมีค่า tailing factor เท่ากับ 1.22 ซึ่งน้อยกว่า 2 และมีค่า capacity factor (k') เท่ากับ 7.09 ± 0.005 ซึ่งเป็นค่ายอมรับ ได้ตามเกณฑ์ ควรอยู่ในช่วง 2-20 (รูปที่ 2 และ ตารางที่ 1) โดยใช้ stationary phase เป็น C18 (250 mm x 4.60 mm, 5 μm) อัตราเร็ว 1.0 mL/min ใช้ injection volume 10 μL และ UV detector ที่ 265 nm



รูปที่ 2 โครมาโทแกรมของ acetazolamide ก) ในสารละลายมาตรฐาน ข) ในยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide

ตารางที่ 1 ผลของการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ mobile phase (n=3)

mobile phase buffer: acetonitrile	retention time (t_R) (min)	capacity factor(k')	tailing factor
60 : 40	3.00 ± 0.0005	4.99 ± 0.0006	1.14 ± 0.0075
70 : 30	3.29 ± 0.0015	5.57 ± 0.003	1.22 ± 0.007
80 : 20	4.13 ± 0.0024	7.09 ± 0.005	1.22 ± 0.0011

2. การศึกษา system suitability

ระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสมดังผลในตารางที่ 2 โดยมีค่า % RSD ของ retention time และ peak area ของสารมาตรฐาน acetazolamide เท่ากับ 0.06 และ 0.27 ตามลำดับซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 ส่วนค่า tailing

factor และ plate number เท่ากับ 1.22 ± 0.0011 และ 8636 ± 19.32 ตามลำดับ แสดงว่าระบบในการวิเคราะห์ และ คอลัมน์ที่ใช้ในการทดลองมีประสิทธิภาพ เหมาะสมสำหรับการทดลองนี้

ตารางที่ 2 ผลที่ได้จากการศึกษา system suitability

parameter	results	% RSD
plate number (N)	8636 $\pm$ 19.32	-
capacity factor (k')	7.09 $\pm$ 0.005	-
tailing factor	1.22 $\pm$ 0.0011	-
retention time	4.13 $\pm$ 0.0024	0.06
peak area	925363 $\pm$ 2526	0.27

3. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

3.1 Specificity วิธีการวิเคราะห์มีความเฉพาะเจาะจง เนื่องจาก acetazolamide สามารถแยกออกจากส่วนประกอบอื่นๆในน้ำกระสายยาได้ โดยมี retention time เท่ากับ 4.135 นาที (รูปที่ 2)

3.2 Linearity and range แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน acetazolamide กับ peak area โดยมีสมการมาตรฐาน คือ $y = 31000x - 6248$ และ linearity ของ acetazolamide อยู่ในช่วง 10-50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่า $R^2 = 0.999$

3.3 Precision แสดงความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ รายงานผลออกมาในรูป %RSD ดังตารางที่ 3 จากการวิเคราะห์พบว่า %RSD ของ acetazolamide มี intra-day precision น้อยกว่า 2% และ inter-day precision น้อยกว่า 5% ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ แสดงว่าวิธีที่ใช้ในการศึกษามีความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์

3.4 Accuracy จากการศึกษพบว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้มีความแม่นยำเนื่องจากมี % recovery ของ acetazolamide อยู่ในช่วง 90-110% (ดังตารางที่ 4)

3.5 Limit of quantitation (LOQ) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ พิจารณาจาก

ค่า signal to noise ratio ที่มีค่าเท่ากับ 10:1 จากการวิจัยครั้งนี้มีค่า LOQ ของ acetazolamide เท่ากับ 0.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

4. การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide

จากการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพ โดยสังเกตสีและการกระจายตัวของผงยา ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ทุกสภาวะของการทดสอบตลอดระยะเวลาที่ศึกษา ส่วนการทดสอบความคงสภาพทางเคมี เมื่อพิจารณาจากค่า pH ของยาพบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลง pH ของยาทุกสภาวะตลอดช่วงเวลาที่ใช้ทดสอบเช่นกัน ดังตารางที่ 5

เมื่อนำตัวอย่างยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ และระยะเวลาที่แตกต่างกัน มาวิเคราะห์หา % remaining เทียบกับวันแรก แสดงดังตารางที่ 6 พบว่า % remaining ของ acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-28°C) และ ตู้เย็น (2-8°C) มีค่าอยู่ในช่วง 90-110% ตลอดระยะเวลา 42 วันที่ทดสอบ และมีแนวโน้มที่จะค่อยๆลดลง สำหรับ acetazolamide suspension ที่เก็บที่อุณหภูมิเร่ง (45°C) มี % remaining อยู่ในช่วง 90-110% เป็นเวลา 28 วัน และ

หลังจาก 28 วัน % remaining มีค่าน้อยกว่า 90% แสดงว่า 42 วัน และเก็บที่อุณหภูมิแรงได้เป็นเวลา 28 วัน โดยที่ยา
ยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวน ยังคงมีความแรงตามเกณฑ์
ตะกอน สามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องหรือตู้เย็น ได้เป็นเวลา

ตารางที่ 3 ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์แสดงในรูป %RSD ของ acetazolamide ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของacetazolamide ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	% RSD	
	intra-day precision	inter-day precision
10	0.23	4.83
30	0.27	1.24
50	0.53	1.12

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ % recovery ของ acetazolamide ที่ความเข้มข้นความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ acetazolamide ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ความเข้มข้นที่วัดได้ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) mean $\pm$ SD	% recovery
10	9.41 $\pm$ 0.02	94.07
30	29.51 $\pm$ 0.08	98.38
50	49.67 $\pm$ 0.26	99.34

ตารางที่ 5 ผลการวัด pH ของยา acetazolamide suspension

สภาวะ	sample	pH (mean $\pm$ SD)					
		วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	วันที่ 42
อุณหภูมิห้อง (25-28°C)	acetazolamide suspension	4.90 $\pm$ 0.03	4.83 $\pm$ 0.06	4.92 $\pm$ 0.01	4.94 $\pm$ 0.07	4.93 $\pm$ 0.06	5.05 $\pm$ 0.02
	vehicle	4.20	4.30	4.23	4.32	4.22	4.39
ตู้เย็น (2-8°C)	acetazolamide suspension	4.98 $\pm$ 0.008	5.05 $\pm$ 0.06	5.12 $\pm$ 0.03	5.08 $\pm$ 0.07	5.09 $\pm$ 0.04	5.03 $\pm$ 0.06
	vehicle	4.25	4.30	4.28	4.20	4.23	4.30
อุณหภูมิแรง (45°C)	acetazolamide suspension	4.91 $\pm$ 0.01	4.81 $\pm$ 0.07	4.87 $\pm$ 0.02	4.87 $\pm$ 0.02	4.83 $\pm$ 0.07	4.97 $\pm$ 0.03
	vehicle	4.25	4.18	4.23	4.24	4.30	4.30

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือของยา acetazolamide suspension (% remaining)

สภาวะ	% remaining (mean $\pm$ SD)				
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	วันที่ 42
อุณหภูมิห้อง (25-28°C)	97.87 $\pm$ 3.57	98.81 $\pm$ 3.13	97.97 $\pm$ 0.93	95.53 $\pm$ 5.38	93.24 $\pm$ 2.10
ตู้เย็น (2-8°C)	95.22 $\pm$ 2.40	99.81 $\pm$ 4.47	97.71 $\pm$ 1.08	94.72 $\pm$ 1.17	91.04 $\pm$ 1.57
อุณหภูมิเร่ง (45°C)	93.93 $\pm$ 0.05	95.77 $\pm$ 1.59	95.89 $\pm$ 1.16	90.86 $\pm$ 1.90	83.50 $\pm$ 1.16

อภิปรายผลและสรุป

จากการศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนตั้งแต่วันที่แรกที่เตรียมจนถึงวันที่ 42 โดยมีการควบคุมสภาวะในการเก็บยาที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน พบว่าลักษณะทางกายภาพของตำรับยาไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกสภาวะ รวมถึงไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของยาเตรียมเฉพาะคราวด้วย จาก USP 31 & NF 26, 2008 ได้ระบุ pH ที่เหมาะสมของยา acetazolamide ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนคือ pH 4-5 และจากการวิจัยครั้งนี้พบว่าค่า pH ของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide มีค่าอยู่ในช่วงดังกล่าวและมีแนวโน้มค่า pH จะสูงขึ้นหลังจากวันที่ 42 ของการทดสอบซึ่งอาจเกิดจากสารเสื่อมสลาย (degradation products) ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา hydrolysis และส่งผลต่อการเสื่อมสลายของตัวยาสำคัญ (Parasrampur and Das, 1989) โดยพบว่าหากน้ำกระสายยาที่มีความเป็นด่าง จะทำให้ acetazolamide เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ได้ง่ายและเกิดสารกลุ่มเอมีน (5-อะมิโน-1,3,4-thiadiazole-2-sulfonamide) และกรดอะซิดิกขึ้น (ดังรูปที่ 1) ซึ่งกลายเป็นสารปนเปื้อนในยาเตรียมเฉพาะคราว โดยมีแสงและความร้อนจะเป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว (Alexander *et al.*, 1991) ปัจจุบันยังไม่พบข้อมูลว่าสารเสื่อมสลายดังกล่าวที่เกิดขึ้นมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและมีผลต่อร่างกายหรือไม่ อย่างไร

สำหรับการศึกษาการวิเคราะห์ร้อยละปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือ (%remaining) ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-28°C) และที่อุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C) มี %remaining อยู่ในมาตรฐานช่วง 90-110% ของปริมาณยาเริ่มต้นหลังผสมยาแล้ว เป็นเวลา 42 วัน ในขณะที่ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิเร่ง (45°C) มี %remaining อยู่ในช่วงมาตรฐานเป็นเวลา 28 วัน และเมื่อครบวันที่ 42 ค่า

%remaining ไม่ผ่านมาตรฐานเนื่องจากมีปริมาณตัวยาลดลงน้อยกว่า 90% แสดงให้เห็นถึงความไม่คงตัวของยาน้ำแขวนตะกอนเมื่อเก็บที่สภาวะเร่ง (45°C) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ทรงพร จึงมั่นคงและคณะ (Joungmunkong *et al.*, 2013) ที่พบว่ายาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนขนาดความแรง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรจะมีปริมาณตัวยาสำคัญน้อยกว่า 90% เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% นานเกินกว่า 30 วัน

การศึกษาของ Alexander และคณะ (Alexander *et al.*, 1991) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความคงตัวของ acetazolamide suspension ความแรง 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรที่เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 5, 22, 30, 40 และ 50°C เป็นเวลา 79 วัน พบว่าที่อุณหภูมิ 5, 22 และ 30°C ยามีความคงตัวดีตลอดระยะเวลา 79 วัน โดยมี pH อยู่ในช่วง 4-5 และมี %remaining อยู่ในช่วงมาตรฐาน แต่ที่อุณหภูมิ 40 และ 50°C ความคงตัวของยาจะลดลง โดยมี %remaining น้อยกว่า 90% หลังจาก 79 วันและ 32 วันตามลำดับ อีกการศึกษาที่ทำในลักษณะคล้ายคลึงกันคือ การศึกษาของ Allen และ Erickson (Allen and Erickson, 1996) ได้ทำการศึกษาความคงตัวของ ของ acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ความแรง 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 5 และ 25°C เป็นเวลา 60 วันพบว่า acetazolamide suspension มีความคงตัวดีทั้งทางกายภาพและทางเคมี และมี %remaining อยู่ในช่วงมาตรฐานทั้งที่อุณหภูมิ 5 และ 25°C ตลอดระยะเวลา 60 วันที่ศึกษา และจากเภสัชตำรับ USP 31 & NF 26, 2008 ได้แนะนำให้เช่นเดียวกันว่าควรเก็บยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ความแรง 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องหรือตู้เย็นได้นานถึง 60 วัน อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวมีความแตกต่างของความแรงของยาเตรียม

เฉพาะคราวที่ใช้ ชนิดของน้ำกระสายยาและปัจจัยอื่นๆ ซึ่งอาจมีผลต่อปฏิกิริยา hydrolysis หรือเกิด degradation products ได้ต่างกัน

ดังนั้นจากผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าควรเก็บยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ความแรง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องหรือตู้เย็นได้เป็นเวลา 42 วัน และความเป็นกรด-ด่างของน้ำกระสายยาคงอยู่ในช่วง 4-5 เพื่อให้เกิดความมั่นใจได้ว่ายายังคงมีความแรงตามเกณฑ์ และไม่มีการปนเปื้อนของสารเสื่อมสลาย

การวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิกโดยช่วยกำหนดอายุและการเก็บรักษาของยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน และยังสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการเก็บรักษาของผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้ยังช่วยให้เภสัชกรประจำโรงพยาบาลสามารถบริหารยาให้ผู้ป่วยได้ง่ายขึ้นและวางแผนการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผู้ป่วยได้รับความสะดวกสบายในการใช้ยามากขึ้น อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเสื่อมสลายของตัวยาสำคัญร่วมด้วยเช่น ปริมาณน้ำในตำรับ ปฏิกริยาระหว่างภาชนะหรือสารในตำรับกับตัวยาสำคัญ เป็นต้น และทำการทดสอบ microbiological stability เพื่อยืนยันความปลอดภัยในการใช้ยาดังกล่าว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเภสัชกรรมคลินิกและภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้การสนับสนุนสารเคมี วัสดุอุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการ และเครื่อง HPLC และขอขอบคุณผอ. นวรัตน์ วิมลสาระวงศ์ และกลุ่มงานเภสัชกรรม สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำกระสายยาสูตร 1 สำหรับเตรียมยาเตรียมเฉพาะคราว acetazolamide

References

- Alexander KS, Haribhakti RP, Parker GA. Stability of acetazolamide in suspension compounded from tablets. *Am J Hosp Pharm* 1991; 48: 1241-1244.
- Allen LV, Erickson MA. Stability of acetazolamide, allopurinol, azathioprine, clonazepam, and flucytosine in extemporaneously compounded oral liquids. *Am J Health-Syst Pharm* 1996; 53: 1944-1949.
- Batzdorf U. The management of cerebral edema in pediatric practice. *Pediatrics* 1976; 58: 78-88.
- International Conference on Harmonisation (ICH) expert working group. ICH harmonized tripartite guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). Commission of the European Communities; 1996.
- Joungmunkong Z, Na-Ranong S, Rakrod S, Ormlaor S, Sila-on W. Accelerated stability testing of extemporaneous suspensions and reconstituted powder for suspensions of acetazolamide and furosemide. *IJPS* 2013; 9(1): 32-39.
- Parasrampur J, Das GV. Preformulation Studies of acetazolamide: effect of pH, two buffer species, ionic strength and temperature of its stability. *J Pharm Sci* 1989; 78: 855-857.
- Sabri K, Levin AV. The additive effect of topical dorzolamide and systemic acetazolamide in pediatric glaucoma. *J AAPOS* 2006; 10(5): 464-468.
- The United States Pharmacopoeia 31 and National Formulary 26. Acetazolamide oral suspensions (Revision Bulletin) [online] 2008 [cited 2013 Mar 7]. Available from: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/acetazolamideOralSuspension.pdf.