

การศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโดพริล ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน

ชญาณิศ ศรชัยธวัชวงศ์¹, วัฒนพร พัฒนภักดี¹, บุญตา ฉัตรวีระสกุล²,
จิตรลดา นุ่มเจริญ³, ณิชากร ทวีทุน³, นวกรณ์ วิมลสารวงค์⁴

Received: 12 June 2013

Accepted: 15 September 2015

บทคัดย่อ

บทนำ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบหาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโดพริลในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่เก็บในภาชนะบรรจุป้องกันแสง วิธีดำเนินการวิจัย: การประเมินความคงสภาพทางด้านกายภาพและทางเคมีเปรียบเทียบระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น (2-8 องศาเซลเซียส) โดยทำการทดสอบในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 **ผลการวิจัย:** ลักษณะทางกายภาพสังเกตจากสี ลักษณะของตะกอน และการกระจายตัวของผงยาเมื่อกลับขวด พบว่าทุกสภาวะไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพตลอดระยะเวลา 28 วัน ส่วนลักษณะทางเคมีศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ร้อยละปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือด้วยวิธี Reversed phase HPLC ค่าที่ยอมรับได้ควรอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 ของปริมาณตัวยาเริ่มต้นตามที่เภสัชตำรับกำหนดพบว่ายาเตรียมเฉพาะคราวแคปโดพริลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง มีร้อยละปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือน้อยกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับยาเตรียมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น ยังคงมีร้อยละปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือน้อยกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้เป็นเวลา 14 วันและยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโดพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนมีค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 4 **สรุปผลการวิจัย:** สภาวะที่อุณหภูมิตู้เย็น (2-8 องศาเซลเซียส) เป็นสภาวะที่ยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโดพริล รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนมีความคงสภาพเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยมีปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือน้อยกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้งานวิจัยนี้สามารถนำไปช่วยเภสัชกรโรงพยาบาลกำหนดอายุและสภาวะการเก็บรักษาของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโดพริล รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน

คำสำคัญ: แคปโดพริล, ความคงสภาพ, ยาเตรียมเฉพาะคราว, ยาน้ำแขวนตะกอน

วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2558; 11(3): 36-47

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดนครนายก 26120

² อาจารย์ประจำ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดนครนายก 26120

³ นักศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดนครนายก 26120

⁴ ฝ่ายเภสัชกรรม สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

* ติดต่อผู้พิมพ์: ชญาณิศ ศรชัยธวัชวงศ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดนครนายก 26120

e-mail: chayanid@g.swu.ac.th

Stability Assessment of Extemporaneous Captopril Oral Suspension

Chayanid Sornchaithawatwong^{1*}, Wattanaporn Phattanaphakdee¹, Boonta Chutvirasakul²,
Jitrlada Numcharoen³, Nichakorn Tawetun³, Nawaporn Vimolsarawong⁴

Abstract

Introduction: The aim of this study was to test the stability of extemporaneous captopril oral suspension (1 mg/ml) stored in light-resistant containers. **Methods:** The physical and chemical stability was assessed in those suspension stored at room temperature (25-28°C) compared to those at the refrigerated temperature (2-8°C). The samples were tested on day 0, 7, 14, 21, 28. **Results:** The physical characteristics including color, sedimentation and redispersibility of captopril oral suspension were unchanged in all conditions through day 28. The chemical characteristics were measured by pH alteration and the remaining drug content analyzed by reversed phase HPLC. The acceptable range of remaining drug content, based on USP criteria, was 90-110% of the initial content. At room temperature (25-28°C), remaining drug content in suspension was out of the acceptable range. At the refrigerated temperature (2-8°C), remaining drug content in suspension stored was in the acceptable range (90-110%) through 14 days. The pH of extemporaneous captopril oral suspension was found to be less than 4. **Conclusion:** At the refrigerated temperature (2-8°C), extemporaneous captopril oral suspension was stable for 14 days that remaining drug content was in the acceptable range. The result from this research can help hospital pharmacists to efficiently assign the shelf life and storage conditions of extemporaneous captopril oral suspension.

Keywords: captopril, stability, extemporaneous, suspension

IJPS 2015; 11(3): 36-47

¹ Assistant Professor, Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University, Nakhon-Nayok Province, 26120

² Lecturer, Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University, Nakhon-Nayok Province, 26120

³ Pharmacy Students, Srinakharinwirot University, Nakhon-Nayok Province, 26120

⁴ Department of Pharmacy, The Queen Sirikit National Institute of Child Health (QSNICH), Thailand

* **Corresponding author:** Chayanid Sornchaithawatwong, Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University, Nakhon-Nayok Province, 26120, Thailand, e-mail: chayanid@g.swu.ac.th

บทนำ

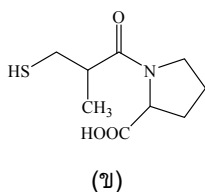
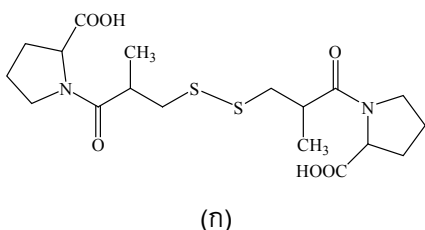
แคปโตพริล (captopril) เป็นยาในกลุ่ม angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) ซึ่งใช้ในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง (Leonard et al., 2007) และหัวใจวาย (Kay et al., 2001) ซึ่งสามารถใช้ได้ในผู้ป่วยเด็ก โดยมีจำหน่ายในรูปแบบยาเม็ดขนาดความแรง 25, 50 มิลลิกรัม แต่ไม่มีเภสัชภัณฑ์ในรูปแบบยาน้ำ ทำให้เภสัชกรโรงพยาบาลต้องผลิตยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล เพื่อให้เหมาะสมหรือสะดวกแก่ผู้ป่วยเด็ก ปัญหาที่พบบ่อยของยาเตรียมเฉพาะคราว คือ รสชาติที่ไม่น่ารับประทานและขาดความคงสภาพทั้งทางด้านกายภาพ เคมีและชีวภาพ (Patel et al., 2011) แคปโตพริลเป็นยาที่ถูกออกซิเดชันได้ง่ายในสภาวะที่เป็นด่าง จะได้สารแคปโตพริล ไดซัลไฟด์ (captopril disulfide) (Pramar et al., 1992) ดังรูปที่ 1 ซึ่งเป็นสารที่ยังไม่รายงานว่ามีฤทธิ์ในการรักษา หรือมีความเป็นพิษต่อร่างกาย และการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวขึ้นกับความเข้มข้นของออกซิเจนและที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 4 (Glass and Haywood, 2006) โดยปัจจัยดังกล่าวส่งผลต่อความคงสภาพยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงสภาพของตำรับยาเตรียมดังกล่าว คือ การปนเปื้อนจากโลหะหนัก การสัมผัสกับแสง อุณหภูมิ แหล่งที่มาของวัตถุดิบ สารช่วยในตำรับ และสภาวะการเก็บรักษา (Lye et al., 1997) งานวิจัยของ Prammar และคณะ ได้ศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลโดยใช้น้ำกับน้ำเชื่อมเป็นน้ำกระสายยาแล้วเปรียบเทียบความคงสภาพของทั้งสองตำรับพบว่าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสยาเตรียมเฉพาะคราวที่เตรียมจากน้ำมีความคงสภาพทางเคมี 20 วัน ส่วนในตำรับที่เตรียมจากน้ำเชื่อมมีความคงสภาพทางเคมี 8 วัน และสำหรับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตำรับยาเตรียมที่เตรียมจากน้ำกระสายยาทั้งสองชนิดขาดความคงสภาพทางเคมี (Prammar et al., 1992)

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยในประเทศไทยของพรศิริและคณะ ได้ทำการศึกษาโดยนำยาเม็ดแคปโตพริลมาบดแล้วนำมาละลายในน้ำกระสายยาสองชนิด คือ น้ำดื่มบรรจุขวดที่ผ่านการต้มสุกและทิ้งไว้ให้เย็นกับน้ำประปาเพื่อเปรียบเทียบความคงสภาพ พบว่าทั้งสภาวะที่ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้องตำรับยาเตรียมที่เตรียมจากน้ำดื่มบรรจุขวดมีความคงสภาพทางเคมีมากกว่าตำรับที่เตรียมจากน้ำประปา และยังพบว่าตำรับที่เก็บที่อุณหภูมิห้องทั้งสองตำรับขาดความคงสภาพทางจุลชีววิทยา (Supattanakul et al., 2006) จะเห็นได้ว่าปัญหาหลักของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลคือ ตำรับยาเตรียมขาดความคงสภาพ จึงทำให้เกิดปัญหาทางคลินิกตามมา คือ ผู้ป่วยได้รับยาที่มีคุณภาพและประสิทธิภาพในการรักษาที่ดี แต่มีความคงสภาพในระยะเวลานั้น นอกจากนี้ผู้ป่วยต้องกลับมารับยาบ่อย หรือก่อนการนัดหมายของแพทย์ หรือผู้ป่วยบางรายไม่สามารถมารับเองได้ทางโรงพยาบาลต้องส่งตำรับยาเตรียมทางไปรษณีย์ ทำให้มีค่าใช้จ่ายมากขึ้น

ด้วยปัญหาเหล่านี้ทำให้สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินีจึงได้พัฒนายาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล ในรูปยาน้ำแขวนตะกอน โดยการเติมกรดซิตริกลงในตำรับเพื่อให้ยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลมีความเป็นกรด-ด่าง น้อยกว่า 4 ซึ่งจะส่งผลให้ตำรับยาเตรียมดังกล่าวมีความคงสภาพเพิ่มมากขึ้น (Vimolsarawong, 2012) เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาที่ดีและมีความคงตัวตลอดอายุการใช้งานตามที่กำหนด และเพื่อให้การรักษาพยาบาลผู้ป่วยเกิดประสิทธิผลมากที่สุด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนที่มีการเติมกรดซิตริก เพื่อทำให้ทราบข้อมูลความคงสภาพของตำรับ และนำไปกำหนดสภาวะและระยะเวลาในการเก็บรักษายาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลให้เหมาะสมมากที่สุด

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโทพริล รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน



รูปที่ 1 โครงสร้างแคปโทพริล (ก) และแคปโทพริลไดซัลไฟด์ (ข) (Pramar et al.1992)

วิธีดำเนินการวิจัย

ยาและสารเคมี

สารมาตรฐานแคปโทพริล (Sigma Aldrich, USA), methanol HPLC grade (Labscan, Thailand), phosphoric acid 85% (Labscan, Thailand) และยาเม็ดแคปโทพริล (capril, Thailand) ขนาด 25 มิลลิกรัม/เม็ด

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

High performance liquid chromatography (HPLC) with autosampler (Thermo separation product, USA), UV Detector (Thermo separation product, USA), column C18BDS Hypersil 250 mm x 4.60 mm, 5 μ m (Thermo separation product, USA), ตู้เย็น (National, Thailand), เครื่อง ultrapure water (MAXIMA, England), เครื่องชั่ง (Satorius, Germany), pH meter (ORION, USA)

วิธีการศึกษาวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์แคปโทพริล

1.1 เตรียม standard stock solution ของแคปโทพริลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วปิเปตมา 200 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย mobile phase ใน volumetric flask 10 มิลลิลิตรได้ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

1.2 ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ mobile phase คือ methanol: water: phosphoric acid เท่ากับ 55:45:0.05, 60:40:0.05 และ 65:35:0.05
1.3 จีตสารเข้าเครื่อง HPLC โดยกำหนดสภาวะของ stationary phase เป็น C18 (250 mm x 4.60 mm, 5 μ m) อัตราเร็ว 1.0 ml/min injection volume 20 μ l และ UV detector ที่ 220 nm

2. การศึกษา system suitability (The USP 36& NF 31, 2013)

เตรียมสารละลายมาตรฐานแคปโทพริล 20 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) โดยวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานแคปโทพริลเทียบกับองค์ประกอบอื่นๆ ในน้ำกระสายยาว่าสามารถแยกออกจากกันได้โดยวิธี HPLC

3.2 ความสัมพันธ์อย่างเป็นเส้นตรง และช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ (linearity and range) เตรียมสารมาตรฐานแคปโตพริล 5–40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ทำ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง peak area (แกน y) และความเข้มข้นของสารมาตรฐานแคปโตพริล(แกน X) โดยค่า correlation coefficient (R) ควรมากกว่า 0.9950

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

- intra-day precision วิเคราะห์สารละลายแคปโตพริลความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และคำนวณ %RSD ค่าที่ยอมรับได้คือ %RSD ควรมีน้อยกว่า 2%

- inter-day precision วิเคราะห์สารละลายแคปโตพริลความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 วัน และคำนวณ %RSD ค่าที่ยอมรับได้คือ %RSD ควรมีน้อยกว่า 2%

3.4 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) นำสารละลายแคปโตพริลความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วย HPLC โดยทำ 3 ซ้ำและคำนวณ %recovery โดยเกณฑ์มาตรฐานควรอยู่ในช่วง 98%-102%

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

3.6 ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายแคปโตพริลแล้วพิจารณาความเข้มข้นที่ให้ค่า signal-to-noise เท่ากับ 3:1

4. การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล

4.1 การเตรียมยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (ความแรง 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เตรียมโดยการบดเม็ดยาแคปโตพริล 25 มิลลิกรัม ใส่ในภาชนะบรรจุป้องกันแสง เติมน้ำกระสายยาที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3 จนมีปริมาตรครบ 25 มิลลิลิตรโดยสูตรตำรับของน้ำกระสายยาที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 (Vimolsarawong, 2012) เป็นดังนี้

สูตรตำรับของน้ำกระสายยาความเป็นกรด-ด่าง 3

CMC mucilage	14 ml
70 % sorbitol	20 ml
Water	5 ml
10 % Methylparaben + 2 %	
Propylparaben in PG	0.8 ml
Syrup qs to	100 ml
Adjust with citric acid pH 3	

(CMC: Carboxymethyl cellulose, PG : propylene glycol, qs to : quantity sufficient to)

ส่วนประกอบ CMC mucilage	
CMC 1500	1.4 g
10 % Methylparaben + 2 %	
Propylparaben in PG	1.4 ml
Water qs to	100 ml

4.2 สภาวะที่ใช้ในการทดสอบความคงสภาพ

นำขวดยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เก็บที่สภาวะอุณหภูมิแตกต่างกัน 2 อุณหภูมิ วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ได้แก่ อุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C) และอุณหภูมิห้อง (25-28°C) สภาวะละ 3 ตัวอย่างโดยวันที่ผสมยานับเป็นวันแรก (day 0)

4.3 การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโทพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน โดยความคงสภาพทางกายภาพ พิจารณาจากการสังเกตสีลักษณะของตะกอน และการกระจายตัวของผงยาเมื่อเขย่าส่วนความคงสภาพทางเคมี พิจารณาจากค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวิเคราะห์ร้อยละปริมาณตัวยาสาคัญที่คงเหลือ (%remaining) โดยทดสอบวันที่ 7, 14, 21 และ 28 เทียบกับวันแรก

4.4 การวิเคราะห์หาร้อยละปริมาณยาแคปโทพริลที่เหลือ (%remaining)

นำยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโทพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนมาเขย่าเพื่อให้ผงยากระจายตัวได้ดี จากนั้นนำยาเตรียมเฉพาะคราวที่เตรียมได้มาหาความหนาแน่น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.25 กรัม/มิลลิลิตร แล้วจึงชั่งยาเตรียมเฉพาะคราวประมาณ 250 มิลลิกรัม จะทำให้ได้ตัวยาแคปโทพริล 200 ไมโครกรัม ใส่ใน volumetric flask 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ mobile phase ประมาณ 5 มิลลิลิตรแล้วนำไป sonicate ปรับปริมาตรด้วย mobile phase จนครบ (20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นำไปกรองผ่าน 0.45 μ m nylon syringe filter แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย reversed phase HPLC คำนวณหาร้อยละปริมาณยาแคปโทพริลที่คงเหลือ (%remaining) ในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 เทียบกับวันแรกโดยค่าที่ยอมรับได้ควรอยู่ในช่วง 90-110% ของปริมาณยาเริ่มต้น (The USP 36 & NF 31, 2013)

ตารางที่ 1 ผลของการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ mobile phase (n=3)

mobile phase methanol: water: phosphoric acid	retention time (t_R) (min $\pm$ SD)	tailing factor (mean $\pm$ SD)
55:45:0.05	3.993 $\pm$ 0.0110	0.834 $\pm$ 0.0080
60:40:0.05	3.651 $\pm$ 0.0016	0.897 $\pm$ 0.0106
65:35:0.05	3.294 $\pm$ 0.0026	0.982 $\pm$ 0.0022

หมายเหตุ สภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ methanol: water: phosphoric acid (65: 35:0.05), C18 (250 mm x 4.60 mm, 5 μ m) อัตราเร็ว 1.0 ml/min injection volume 20 μ l และ UV detector ที่ 220 nm

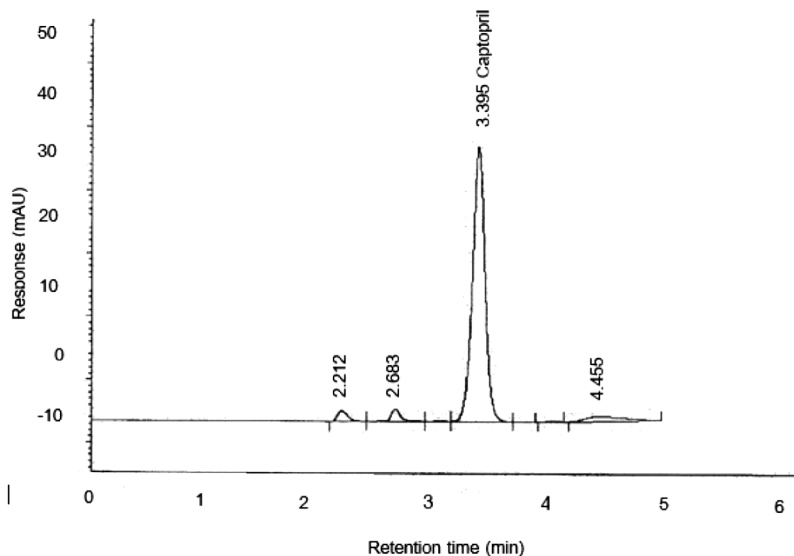
การวิเคราะห์ข้อมูลและการนำเสนอข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา สำหรับผลลัพธ์การศึกษาต่างๆ แสดงในรูปร้อยละ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สำหรับการศึกษา system suitability และ method validation จะวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้โดยเปรียบเทียบกับมาตรฐานตามเกณฑ์ The USP 36 & NF 31, 2013 และ International Conference on Harmonisation (ICH), 1996 ตามลำดับและสำหรับการศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโทพริล วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ (one way ANOVA)

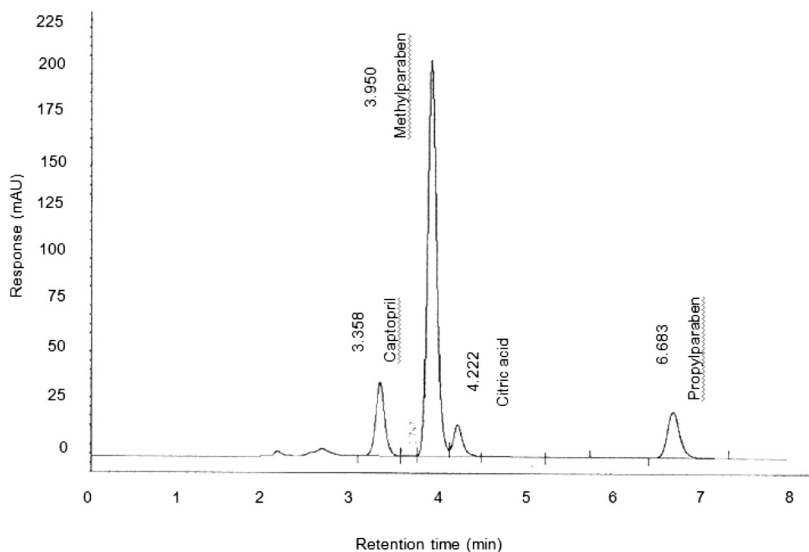
ผลการศึกษาวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ยาแคปโทพริล

ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค reversed phase HPLC นี้ พบว่าอัตราส่วน mobile phase ที่ทำให้ peak ของ แคปโทพริลแยกกับ solvent front ได้ดีคือ อัตราส่วน 65:35:0.05 ของ methanol: water: phosphoric acid นอกจากนี้ยังมีค่า tailing factor เท่ากับ 0.982 ± 0.0022 ซึ่งน้อยกว่า 2 แสดงว่า peak มีลักษณะสมมาตร ซึ่งเป็นค่ายอมรับได้ตามเกณฑ์ (ดังแสดงในรูปที่ 2 และตารางที่ 1)



(ก) ในสารละลายมาตรฐาน



(ข) ในยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล

รูปที่ 2 โครมาโทแกรมของแคปโตพริล (ก) ในสารละลายมาตรฐาน (ข) ในยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล (สภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ methanol: water: phosphoric acid (65: 35: 0.05), C18 (250 mm x 4.60 mm, 5 μ m) อัตราเร็ว 1.0 ml/min injection volume 20 μ l และ UV detector ที่ 220 nm)

2. การศึกษา system suitability

ระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสม โดยมีค่า %RSD ของ retention time และ peak area ของสารมาตรฐานแคปโทพริลเท่ากับ 0.18 และ 0.53 ตามลำดับซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 ส่วนค่า tailing factor, capacity factor (k') และ plate number เท่ากับ 0.98 ± 0.0141 , 2.40 ± 0.0325 และ 4395.33 ± 67.21 ตามลำดับ แสดงว่าระบบในการวิเคราะห์และคอลัมน์ที่ใช้ในการทดลองมีประสิทธิภาพเหมาะสมสำหรับการทดลองนี้

3. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

3.1 Specificity วิธีการวิเคราะห์มีความเฉพาะเจาะจง เนื่องจากแคปโทพริล ($t_R = 3.358$ นาที) สามารถแยกออกจากส่วนประกอบอื่นๆ ในน้ำกระสายยาได้โดย methyl paraben ($t_R = 3.950$ นาที), propylparaben ($t_R = 6.683$ นาที) และ citric acid ($t_R = 4.222$ นาที) (แสดงดังรูปที่ 2)

3.2 Linearity and range แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแคปโทพริล (แกน X) กับ peak area (แกน y) โดยมี linearity ของแคปโทพริลอยู่ในช่วง

5-40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรและสมการมาตรฐานคือ $y = 17035x - 2497.5$ โดยมีค่า $R = 0.9996$

3.3 Precision แสดงความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ รายงานผลออกมาในรูป %RSD (แสดงดังตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ %RSD ของแคปโทพริล พบว่า intra-day precision น้อยกว่า 2% และ inter-day precision น้อยกว่า 2% ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ แสดงว่าวิธีที่ใช้ในการศึกษามีความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์

3.4 Accuracy จากการศึกษาพบว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้มีความแม่นยำเนื่องจากมี %recovery ของแคปโทพริลอยู่ในช่วง 98-102% (ตารางที่ 3)

3.5 Limit of quantitation (LOQ) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้พิจารณาจากค่า signal to noise ratio ที่มีค่าเท่ากับ 10:1 จากการวิจัยครั้งนี้มีค่า LOQ ของแคปโทพริลเท่ากับ 3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.6 Limit of detection (LOD) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจพบได้พิจารณาจากค่า signal to noise ratio ที่มีค่าเท่ากับ 3:1 จากการวิจัยครั้งนี้มีค่า LOD ของแคปโทพริล เท่ากับ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 2 ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์แสดงในรูป %RSD ของแคปโทพริลที่แต่ละความเข้มข้น

ความเข้มข้นของแคปโทพริล ($\mu\text{g/ml}$)	%RSD	
	intra-day precision (n=5)	inter-day precision (n=3)
5	0.58	1.87
20	0.51	1.22
40	0.82	1.31

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ %recovery ของแคปโตพริลที่แต่ละความเข้มข้น

ความเข้มข้นของแคปโตพริล (µg/ml)	%recovery (mean±SD) (n=3)
5	100.56 ± 0.58
20	101.36 ± 0.59
40	99.79 ± 1.84

4. การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล

จากการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพ โดยสังเกตสีลักษณะของตะกอน และการกระจายตัวของผงยาไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ทุกสภาวะของการทดสอบตลอดระยะเวลาที่ศึกษา คือ สีของยาเตรียม และตะกอนมีสีขาวและการกระจายตัวของผงยาสม่่าเสมอหลังจากเขย่าไม่

เกิน 4 ครั้งส่วนการทดสอบความคงสภาพทางเคมีพิจารณาจากค่าความเป็นกรด-ด่างของตำรับยาพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกสภาวะมีค่าน้อยกว่า 4 และไม่มีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของยาเตรียมเฉพาะคราวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (one way ANOVA, P value > 0.05) ในตลอดระยะเวลาในการวิเคราะห์ (แสดงดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล (n=3)

สภาวะ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (mean±SD)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
อุณหภูมิห้อง (25-28°C)	3.02 ± 0.04	3.04 ± 0.01	3.01 ± 0.01	2.98 ± 0.01	3.01 ± 0.01
อุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C)	2.98 ± 0.06	3.06 ± 0.01	2.98 ± 0.01	2.98 ± 0.02	3.00 ± 0.02

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณร้อยละตัวยาสำคัญที่เหลือของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล (%remaining) (n=3)

สภาวะ	ปริมาณร้อยละตัวยาสำคัญที่เหลือ (mean±SD)			
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
อุณหภูมิห้อง (25-28°C)	89.69±0.64	85.92±0.70	82.65±0.50	78.09±1.29
อุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C)	92.65±1.30	91.22±1.55	88.48±0.70	85.16±0.94

เมื่อนำตัวอย่างยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3 (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ และระยะเวลาที่แตกต่างกัน มาวิเคราะห์หาปริมาณยาแคปโตพริลที่เหลือ (%remaining) เทียบกับวันแรก พบว่าวันที่ 7 ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-28°C) มีค่าปริมาณยาแคปโตพริลที่เหลือ (%remaining) เท่ากับ $89.69 \pm 0.64\%$ ซึ่งน้อยกว่า 90% แสดงว่ายาเตรียมเฉพาะคราวนี้เสียความคงสภาพทางเคมีแต่สำหรับสภาวะอุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C) มีความคงสภาพทางเคมี กล่าวคือ มีค่าปริมาณยาแคปโตพริลที่เหลือ (%remaining) เท่ากับ $92.65 \pm 1.30\%$ และเมื่อเปิดใช้แล้วเป็นเวลา 14 วัน พบว่าค่าปริมาณยาแคปโตพริลที่เหลือ (%remaining) ลดลงแต่ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ $91.22 \pm 1.55\%$ (แสดงดังตารางที่ 5) หลังจากครบ 14 วันแล้ว พบว่าร้อยละของปริมาณยาแคปโตพริลที่เหลือที่อุณหภูมิตู้เย็นลดลงจนไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวอย่างมีนัยสำคัญ (one way ANOVA, P value < 0.05) แสดงว่ายาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3 ควรเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 14 วัน โดยที่ยายังคงมีความแรงตามเกณฑ์ และไม่ควรถูกเก็บยาเตรียมดังกล่าวที่อุณหภูมิห้อง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน ตั้งแต่วันแรกที่เตรียมจนถึงวันที่ 14 โดยมีการควบคุมสภาวะในการเก็บยาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าลักษณะทางกายภาพของตำรับยาไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกสภาวะ คือ ยาเตรียมและตะกอนมีสีขาวและการกระจายตัวของผงยาสม่ำเสมอ หลังจากเขย่าไม่เกิน 4 ครั้ง รวมถึงไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าความ

เป็นกรด-ด่าง (pH) ของยาเตรียมเฉพาะคราวด้วยและจากการศึกษาของ Berger และคณะ (Berger et al., 2007) พบว่าความเป็นกรด-ด่างของตำรับเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสื่อมสลายของตัวยาแคปโตพริลได้ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา oxidation โดยค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยที่สุดคือ ความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 4 (Kristensen et al., 2008) ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยครั้งนี้ที่พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลมีค่าอยู่ในช่วงดังกล่าวตลอดการวิเคราะห์สำหรับการศึกษากวาระหรือระยะเวลาปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือ (%remaining) ด้วยเทคนิค HPLC เป็นอีกตัวชี้วัดที่ใช้ศึกษาความคงสภาพทางเคมี ซึ่งควรอยู่ในช่วง 90-110% ของปริมาณตัวยาเริ่มต้น พบว่ายาเตรียมเฉพาะคราวเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-28°C) ขาดความคงสภาพทางเคมี แต่ยาเตรียมที่เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C) มีความคงสภาพทั้งทางกายภาพและเคมีเป็นระยะเวลา 14 วัน จากผลการทดลองพบว่าแม้ความเป็นกรด-ด่างจะคงที่ตลอดระยะเวลาการศึกษาแต่ความคงสภาพทางเคมีของตำรับยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลลดลง แสดงว่าการลดขีตริกที่เติมลงไปในตำรับไม่ได้มีผลต่อความคงสภาพทางเคมีของตำรับยาเตรียมแคปโตพริล แต่กลับพบว่าเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ความคงสภาพทางเคมีของตำรับเปลี่ยนแปลงไปด้วย กล่าวคือร้อยละของปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือของยาเตรียมที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ (2-8°C) มีค่ามากกว่ายาเตรียมที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-28°C) ซึ่งน่าจะเกิดจากที่สภาวะอุณหภูมิต่ำอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้น้อยลง ยาเตรียมดังกล่าวจึงมีความคงสภาพทางเคมีมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของพรศิริและคณะ (Supattanakul et al., 2006) ที่พบว่าความเป็นกรด-ด่างไม่มีผลต่อการเพิ่มความคงสภาพของยาเตรียมแคปโตพริลแต่ไล่หะหนักที่ปนมากับน้ำประปา และอุณหภูมิส่งผลต่อความคงสภาพต่อตำรับมากกว่า และสอดคล้องกับการศึกษา

ของ Lye และคณะ ที่พบว่าเมื่อเก็บตำรับยาเตรียม แคปโตพริลในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิห้อง (25–28°C) จะมีความคงสภาพน้อยกว่าที่เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น และยังพบว่าตำรับยาเตรียมที่เตรียมจากยาเม็ดมีความคงสภาพมากกว่าตำรับที่เตรียมจากผงยา และการเติมสารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยเพิ่มความคงสภาพของตำรับยาเตรียมได้ (Lye et al., 1997) จากผลการทดลองนี้จึงอาจสรุปได้ว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อความคงสภาพของยาเตรียม เฉพาะคราวแคปโตพริลมากกว่าความเป็นกรด-ด่าง ในตำรับ นอกจากนี้อาจมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเสื่อมสลายของตัวยาสำคัญร่วมด้วย เช่น ปริมาณน้ำในตำรับ โลหะหนัก แสง แหล่งที่มาของวัตถุดิบ ปริมาณของออกซิเจน หรือสารช่วยในตำรับกับตัวยาสำคัญ เป็นต้น ดังนั้นในการพัฒนาตำรับยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลให้มีความคงสภาพมากขึ้น ควรพิจารณาปัจจัยเหล่านี้ร่วมด้วย

ดังนั้นจากผลการศึกษาที่สามารถสรุปได้ว่า ควรเก็บยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริลรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 ความแรง 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 14 วัน และไม่แนะนำให้เก็บที่อุณหภูมิห้อง การวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิกโดยช่วยกำหนดอายุและการเก็บรักษาของยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน และยังสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการเก็บรักษาของผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้ยังช่วยให้เภสัชกรประจำโรงพยาบาลสามารถบริหารยาให้ผู้ป่วยได้ง่ายขึ้นและวางแผนการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผู้ป่วยได้รับความสะดวกสบายในการใช้ยามากขึ้น ลดความถี่ในการกลับมารับยาที่โรงพยาบาล และช่วยประหยัดค่าใช้จ่าย อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาความคงสภาพทางจุลชีววิทยาของตำรับ (microbiological stability) เพื่อยืนยันความคงสภาพทางจุลชีววิทยาของตำรับ และเพื่อความปลอดภัยในการใช้ยาดังกล่าว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้การสนับสนุนสารเคมี วัสดุอุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการและเครื่อง HPLC และขอขอบคุณ ญญ.นวภรณ์ วิมลสารวงศ์ และกลุ่มงานเภสัชกรรม สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี ที่ให้ความอนุเคราะห์สูตรนำกระสายยา สำหรับเตรียมยาเตรียมเฉพาะคราวแคปโตพริล

References

- Berger-Gryllaki M, Podilsky G, Widmer N. The development of a stable oral solution of captopril for paediatric patients. *The European Journal of Hospital Pharmacy Science* 2007; 13(3):27-32.
- Glass BD, Haywood A. Stability considerations in liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products. *J Pharm Pharm Sci* 2006; 9(3): 398-426.
- 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.
- Kay JD, Colan SD, Graham TP. Congestive heart failure in pediatric patients. *Am Heart J* 2001; 142: 923-8.
- Kristensen S, Lao YE, Brustugun J, Braenden JU. Influence of formulation properties on chemical stability of captopril in aqueous preparations. *Pharmazie* 2008; 12 (63):872-877.

- Leonard G, Corey F, Corey H. Hypertension in childhood. *PediatrRev* 2007; 28: 283-298.
- Lye MY, Yow KL, Lim LY. Effects of ingredients on stability of captopril in extemporaneously prepared oral liquids. *Am J Health-Syst Pharm* 1997; 53: 2483-2487.
- Patel VP, Desai TR, Chavda BG, Katira RM. Extemporaneous dosage form for oral liquids. *Pharmacophore* 2011; 2(2): 86-103.
- Pramar Y, Das GV, Bethea C. Stability of captopril in some aqueous systems. *J Clin Pharm Ther* 1992; 17: 185-189.
- Supattanakul P, Apiomrak P, Ovatlarnporn C. The stability of captopril oral solution prepared from tablets. *Songkla Med J* 2006; 24(3): 183-190.
- The United States Pharmacopeia (USP) 36 and The national formulary (NF) 31, Asian edition Volume 2. Rockville: USP Convention Inc; 2013.
- Vimolsarawong N. Extemporaneous compounding of oral liquids for pediatrics. *Thai Pediatr J* 2012; 19(3): 193-199.