

วิธีทำการวิจัยและรายละเอียดของอุปกรณ์และสารที่ใช้ในการทดลอง

วิธีทำการวิจัย

1. เตรียมพรีแกรนูลเลเตคไดลูเอน (Pre-granulated diluents) สารช่วยที่ใช้คือ lactose, dextrose, dicalcium phosphate dihydrate และ calcium sulfate dihydrate แต่ละชนิดนำมาผสมเข้ากับแป้งข้าวโพด แล้วนำไปเตรียมเป็นพรีแกรนูลด้วยวิธีผสมเปียก (wet granulation) โดยใช้สารละลาย polyvinylpyrrolidone (PVP) ในน้ำเป็นตัวยึดเกาะ (binder) (34) ในอัตราส่วน 100 กรัม PVP ต่อ mixture ของสารช่วย 1 กิโลกรัม นำพรีแกรนูลที่ได้แต่ละชนิดมาทดลองตอกเป็น blank tablet โดยวิธีตอกโดยตรง สำหรับสารหล่อลื่น (lubricant) ที่ใช้คือ aerosil 200, talcum และ magnesium stearate ทำการตอกโดยใช้ Single Punch Tablet Machine ใช้ punch ชนิดหน้าแบนเรียบ เส้นผ่าศูนย์กลาง $\frac{3}{8}$ นิ้ว โดยใช้แรงตอกเท่า ๆ กัน นำ blank tablet เหล่านั้นไปหาคุณสมบัติทางกายภาพ คือน้ำหนักเฉลี่ยของเม็ดยา ความแข็ง เปอร์เซ็นต์ความลึกร้อน เวลาการแตกตัว เพื่อดูว่าพรีแกรนูลเลเตคไดลูเอนชนิดใดสามารถจะนำมาตอกทำให้ได้ยาเม็ดที่มีคุณสมบัติทางกายภาพเป็นที่น่าพอใจและสามารถนำไปหา compressibility potential ต่อไปได้
2. ศึกษาถึง particle size distribution, bulk density, true density และ porosity (35) ของตัวยาสำคัญที่ใช้ชนิดต่าง ๆ และของพรีแกรนูลเลเตคไดลูเอนที่เตรียมได้จาก 1 ก่อนที่จะนำไปหาค่า compressibility potential ตัวยาสำคัญที่ใช้ศึกษา 4 ชนิดคือ sulfadiazine, paracetamol, sodium salicylate และ isoniazid

3. ทหาคา compressibility potential ของพรีแกรนูลเลเตคโคลูเอนแต่ละชนิดกับตัวยาสำคัญชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ศึกษา โดยนำมาตอกโดยวิธีตอกโดยตรง เริ่มต้นผสมกับตัวยาสำคัญแต่ละชนิดด้วยเปอร์เซ็นต์ต่ำสุดคือ 10% แล้วเพิ่มขึ้นเป็น 20%, 30% ตามลำดับ ในกรณีเพิ่มครั้งละ 10% แล้วไม่สามารถตอกอัดได้ ก็ลดลงมาเพิ่มเป็นครั้งละ 5%

4. ทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของยาเม็ด คือน้ำหนักโดยเฉลี่ย (average weight) ความแข็ง (hardness) เปอร์เซนต์ความสึกกร่อน (percent friability) เวลาการแตกตัว (disintegration time) และเปอร์เซนต์ความแรงของตัวยาสำคัญตามที่ระบุไว้ในสูตรตำรับ (percent label amount)

5. เปรียบเทียบความคงสภาพของคุณสมบัติทางกายภาพของยาเม็ดคือน้ำหนักโดยเฉลี่ย ความแข็ง เปอร์เซนต์ความสึกกร่อน เวลาการแตกตัว และความคงสภาพทางเคมีของเม็ดยา คือ เปอร์เซนต์ตัวยาสำคัญทุกสูตรที่เตรียมจากพรีแกรนูลเลเตคโคลูเอนทั้ง 4 ชนิดว่าเมื่อเก็บไว้ 4, 8 และ 10 สัปดาห์ ในช่วงเวลาที่ผ่านไปจะเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือไม่

วิธีการเตรียมพรีแกรนูลเลเตคโคลูเอนโดยวิธีผสมเปียก

1. Mixing นำสารช่วยแต่ละชนิดคือ lactose, dextrose, dicalcium phosphate dihydrate และ calcium sulfate dihydrate มาผสมแห้งกับแป้งข้าวโพด 10% ใน V-Shape Mixer 15 นาที แล้วนำสารผสมนี้ถ่ายใส่ Hobart Mixer

2. Granulating เติมน้ำละลาย PVP ในน้ำ ลงใน 1 ผสมนาน 15 นาที จนได้ damp mass นำมาผวน oscillator โดยใช้ตะแกรง stainless เบอร์ 10

3. Drying เกลี่ยในถาดให้สม่ำเสมอหนาประมาณ $\frac{1}{2}$ นิ้ว อบในตู้อบ 50°C นาน 6 ชั่วโมง

4. Rescreening นำมาแรงควยตะแกรง stainless เบอร์ 16

วิธีการหา particle size distribution โดยใช้เครื่องเซยาตะแกรง ใช้ตะแกรงมาตรฐานขนาด 20, 40, 60, 80 และ 100 mesh ใช้ตัวอย่าง 100 กรัม ใส่ในเครื่องเซยาตะแกรงนาน 5 นาที

การหาค่า compressibility potential

1. Mixing นำพรีแกรนูลเลเทคโคลูเอนแต่ละชนิดมาผสมเข้ากับตัวยาสสำคัญที่ใช้ศึกษาแต่ละตัว เริ่มควยผสมตัวยาสสำคัญ 10% ใน V-Shape Mixer นาน 5 นาที
2. Additive Mixing เติม aerosil 200 1%, talcum 2.5 % และ magnesium stearate 0.5% ผสมต่อใน V-Shape Mixer แต่ละตัวใช้เวลา 5 นาที ตามลำดับ
3. Compression นำส่วนผสมที่เข้ากันดีแล้วมาตอกโดยใช้เครื่องตอกชนิด Single Punch Tablet Machine ของ Stokes ใช้ punch ชนิดแบนหน้าเรียบ เส้นผ่าศูนย์กลาง $\frac{3}{8}$ นิ้ว น้ำหนักเม็ดยา 200 มิลลิกรัม ใช้แรงตอกอัดใกล้เคียงกันทุกสูตรตำรับ โดยการใช้ amperemeter เป็นตัวช่วยควบคุมในการปรับแรงอัด

เมื่อสูตรตำรับใดสามารถตอกเป็น active tablet ได้ดีให้เพิ่มเปอร์เซ็นต์ตัวยาสสำคัญชนิดนั้น ๆ อีกครั้งละ 10% จนกว่าจะไม่สามารถตอกอัดเป็นเม็ดได้ ก็ให้ลดเปอร์เซ็นต์ตัวยาสสำคัญลงเหลือเป็นเพิ่มครั้งละ 5%

ยาเม็ดที่ตอกได้นำมาประเมินผลดังนี้

1. หาค่าน้ำหนักโดยเฉลี่ยของยาเม็ด (Average Weight of Tablets) ใช้ตัวอย่าง 20 เม็ด ซึ่งแต่ละเม็ดโดยใช้ Mettler Balance หน่วยเป็นมิลลิกรัม แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย
2. หาค่าความแข็งโดยเฉลี่ยของยาเม็ด (Average Hardness of Tablets) โดยใช้ Monsanto Hardness Tester หน่วยเป็นกิโลกรัม หาค่าเฉลี่ยจากเม็ดยา 10 เม็ด

3. ทดหาเปอร์เซ็นต์ความสึกกร่อนของยาเม็ด (Percent Friability)

ใช้ Erweka Friabilator Type TA3 ใช้เม็ดยา 20 เม็ด เวลา 5 นาที

4. ทหาเวลาการแตกตัวของเม็ดยา (Disintegration Time of Tablets)

ตามมาตรฐานของ USP XX

5. ทหาเปอร์เซ็นต์ความแรงของตัวยาสำคัญของยาเม็ดตามที่ระบุไว้ในสูตรตำรับ

(Percent Label Amount of Tablets) ดังนี้

5.1 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Sulfadiazine เป็นตัวยาสำคัญ (36)

Standard Preparation ซึ่ง Sulfadiazine Reference Standard ให้ได้ประมาณ 60 mg โดยรูนํ้าหนักที่แน่นอนใส่ใน volumetric flask 50 ml ละลายด้วย ammonia TS 10 ml เขย่าให้เข้ากันเป็นครั้งคราว 15 นาที เติม methanol ให้เจือจางและครบปริมาตร pipet 5 ml เติม methanol จนครบปริมาตร 50 ml ผสมให้เข้ากัน pipet 5 ml เติม 0.12 N hydrochloric acid จนครบ 100 ml ผสมให้เข้ากัน

Sample Preparation ซึ่งตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บดให้ละเอียดจนเป็นผงแล้วซึ่งผงยาให้มิตัวยา Sulfadiazine ประมาณ 12 mg โดยรูนํ้าหนักที่แน่นอน ใส่ใน volumetric flask 100 ml เติม ammonia TS 5 ml เขย่าจนแน่ใจว่า Sulfadiazine ละลายหมดคือประมาณ 15 นาที เติม methanol เจือจางและปรับจนครบปริมาตร pipet 5 ml เติม 0.12 N hydrochloric acid จนครบ 100 ml ผสมให้เข้ากัน

Assay Pipet 5 ml ของทั้ง Standard preparation และ Sample Preparation แยกกันลงใน volumetric flask 10 ml 2 ใบ แต่ละใบเติมสารต่อไปน้คือ pipet 1 ml ของ dilute hydrochloric acid (1 ใน 2) ทิ้งไว้จนถึงอุณหภูมิห้องแล้ว pipet 1 ml sodium nitrite solution (1 ใน 1000) ซึ่งเตรียมได้ใหม่ ๆ ลงในแต่ละ flask ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที จากนั้น pipet 1 ml ammonium

sulfamate solution (1 ใน 200) ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที แล้ว pipet 1 ml ของ N-1 naphthylethylenediamine dihydrochloride solution (1 ใน 1000) ที่เตรียมได้ใหม่ ๆ ผสม เติมน้ำจนครบปริมาตร นำสารละลายที่ได้ทั้ง 2 flask ไปอ่านค่า absorbance แต่ละตัวภายในเวลา 15-60 นาที ที่ maximum absorbance 545 nm โดยใช้น้ำเป็น blank

Weight (mg) of sulfadiazine per tablet

$$= 0.2 \times \frac{A_u}{A_s} \times C_s \times \frac{\text{Wt. / tab. (mg)}}{\text{Wt. of sample used (mg)}}$$

where A_u = Absorbance of unknown sample

A_s = Absorbance of standard sulfadiazine

C_s = Weight (mg) of standard sulfadiazine

5.2 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Paracetamol เป็นตัวยาสาคัญ (37)

ชั่งตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บดจนเป็นผง ชั่งผงยาใหม่ด้วยยา Paracetamol ประมาณ 150 mg โดยร่อนน้ำหนักแน่นอน ใส่ใน volumetric flask 200 ml เติมน้ำ 50 ml ของ 0.1 N sodium hydroxide ทำให้เจือจางด้วยน้ำ 100 ml เขย่าให้เข้ากัน นาน 15 นาที เติมน้ำจนครบปริมาตร กรองแล้ว pipet filtrate 10 ml เติมน้ำจนครบปริมาตร 100 ml ใน volumetric flask เขย่าให้เข้ากัน pipet มา 10 ml ใส่ volumetric flask 100 ml เติมน้ำ 0.1 N sodium hydroxide 10 ml เติมน้ำจนครบปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่า absorbance ที่ 257 nm เทียบกับ standard solution ที่เตรียมได้จาก Reference Standard Paracetamol โดยวิธีเดียวกับ sample solution ใช้น้ำเป็น blank

Weight (mg) of Paracetamol per tablet

$$= \frac{A_u}{A_s} \times C_s \times \frac{Wt./tab. (mg)}{Wt. of sample used (mg)}$$

where A_u = Absorbance of unknown sample

A_s = Absorbance of standard paracetamol

C_s = weight (mg) of standard paracetamol

5.3 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ sodium salicylate เป็นตัวยาสำคัญ (38,39)

Standard salicylic acid solution ละลาย 50 mg salicylic acid ที่ซึ่งโดยรูจำนวนที่แน่นอนด้วย chloroform ใน volumetric flask 100 ml แล้วเติม chloroform จนครบปริมาตร pipet 5 ml ใส่ volumetric flask 100 ml เติม 2 หยดของ hydrochloric acid, 2 ml acetic acid, 10 ml methanol และ 20 ml ether เติม chloroform จนครบปริมาตร

Sample solution ชั่งตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บดจนเป็นผง ชั่งผงโดยรูน้ำหนักที่แน่นอนให้มี sodium salicylate 11.59 mg ใส่ separator funnel เติมน้ำ 10 ml หยด hydrochloric acid เล็กน้อยจนเป็นกรด สกัดด้วย chloroform ครั้งละ 20 ml 4 ครั้ง ไซชั่น chloroform ที่สกัดได้ทุกครั้งลงใน volumetric flask 100 ml ปรับปริมาตรให้ครบด้วย chloroform เขย่าให้เข้ากันแล้ว pipet มา 25 ml ใส่ volumetric flask 100 ml เติม 2 หยด hydrochloric acid, acetic acid 2 ml, methanol 10 ml, ether 20 ml ปรับปริมาตรให้ครบด้วย chloroform นำไปอ่านค่า absorbance ที่ 306 nm เทียบกับค่าของ standard solution ที่เตรียมไว้ซึ่งสุดท้ายข้างต้น blank ใช้ 2 หยด hydrochloric acid, acetic acid 2 ml, methanol 10 ml, ether 20 ml ผสมใน volumetric flask 100 ml เติมจนครบปริมาตรด้วย chloroform

Weight (mg) of sodium salicylate per tablet

$$= 1.15904 \times \frac{A_u}{A_s} \times C_s \times \frac{\text{Wt./tab. (mg)}}{\text{Wt. of Sample used (mg)}}$$

where A_u = Absorbance of unknown sample

A_s = Absorbance of standard salicylic acid

C_s = weight (mg) of standard salicylic acid

5.4 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Isoniazid เป็นตัวยาสำคัญ⁽⁴⁰⁾

ซึ่งตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บดจนเป็นผง ซึ่งผงยาให้มี Isoniazid ประมาณ 100 mg โดยร่อนน้ำหนักที่แน่นอนใส่ volumetric flask 100 ml เติมน้ำ 80 ml เขย่าเป็นเวลา 30 นาที เติมน้ำจนครบปริมาตร กรอง pipet filtrate มา 10 ml เติมน้ำจนครบ 100 ml ใน volumetric flask pipet สารละลายครั้งถัดมา 10 ml เติมน้ำ 10.0 ml ของ 0.1 N hydrochloric acid เติมน้ำจนครบปริมาตร 100 ml นำไปวัดค่า absorbance ที่ 260 nm เทียบกับ standard solution ที่เตรียมจาก Reference Standard Isoniazid โดยวิธีการเช่นเดียวกับ sample สำหรับ blank ใช้ tablet excipient ซึ่งไม่มีตัวยาสำคัญอยู่แล้ว มาเตรียมเป็น solution ดังวิธีข้างต้นทุกประการ

Weight (mg) of Isoniazid per tablet

$$= \frac{A_u}{A_s} \times C_s \times \frac{\text{Wt./tab. (mg)}}{\text{Wt. of sample used (mg)}}$$

where A_u = Absorbance of unknown sample

A_s = Absorbance of standard Isoniazid

C_s = Weight (mg) of standard Isoniazid

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง Berkel
2. ตะแกรง stainless เบอร์ 10, 16
3. เครื่องผสมแห้ง (V-Shape Dry Mixer Machine)
4. เครื่องผสม Planetary Mixer (Hobart Mixer)
5. Beaker
6. Stirring rod
7. Oscillating granulator
8. คุบ
9. เครื่องชั่ง Two Pan Balance (OHAUS)
10. เครื่องตอกยาเม็ดชนิด single punch ของ Stoke พร้อม punch และ die ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $\frac{3}{8}$ นิ้ว ชนิดแบนหน้าเรียบ
11. Amperemeter
12. Monsanto Hardness Tester
13. Erweka Friabilator Type TA3
14. เครื่องชั่ง Torsion Balance
15. USP Disintegration Test Apparatus
16. เครื่องชั่งไฟฟ้า Mettler Single Pan Balance (H 31)
capacity 160 กรัม ชั่งได้ละเอียด 0.0001 กรัม
17. Series of sieve ตะแกรงขนาด 20, 40, 60, 80, 100 mesh
18. Shaker
19. Volumetric Flask
20. Erlenmeyer Flask
21. Pipette
22. Magnetic stirrer
23. Watch glass
24. Separator funnel

25. Measuring cyclinder
26. Spectrophotometer (Model 101, Hitachi)
27. กระดาษกรอง Whatman No. 1
28. ขวดแก้วสีชา ผาจากเกลียว

สารที่ใช้ในการทดลอง

1. Lactose, USP (DMV, Holland)
2. Dextrose anhydrous (Tokai, Japan)
3. Dicalcium Phosphate dihydrate (Travimex, W. German)
4. Calcium Sulfate dihydrate (Riedel, German)
5. Corn starch (Mizena, German)
6. Polyvinylpyrrolidone K30 (BSF, W. German)
7. Sulfadiazine BP (China National Chemical, The People's Republic of China)
8. Paracetamol BP (Yamamoto, Japan)
9. Sodium Salicylate BP (Rotexpharma, W. German)
10. Isoniazid BP (Iwaki & Co. Ltd., Japan)
11. Colloidal Silica 200, Aeroisl 200 (Degussa, W. German)
12. Talcum BP (Shin Industrial, Korea)
13. Magnesium stearate BP (Durham Chemicals Ltd., U.K.)
14. Chloroform (May & Baker)
15. Ether (J.T. Baker)
16. Absolute Ethanol (Riedel)
17. Reference Standard Sulfadiazine
18. Reference Standard Paracetamol
19. Reference Standard Sodium salicylate
20. Reference Standard Isoniazid

21. Ammonium Hydroxide (BDH)
22. Methanol (May & Baker)
23. Hydrochloric acid (J.T. Baker)
24. Sodium Nitrite (J.T. Baker)
25. Ammonium Sulfamate (BDH)
26. N-1 naphthylethylenediamine dihydrochloride (BDH)
27. Sodium hydroxide (BDH)
28. Acetic acid (J.T. Baker)
29. Distilled water



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย