

การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วย ระหว่างวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี
สเปกโทรโฟโตเมตรี และฟลูออเรสเซนซ์โพลาริเซชัน อิมมูโนแอสเสย์



เรืออากาศเอก นรินทร์ นุบผาสวรรณ

ศูนย์วิทยพัทยาการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยา

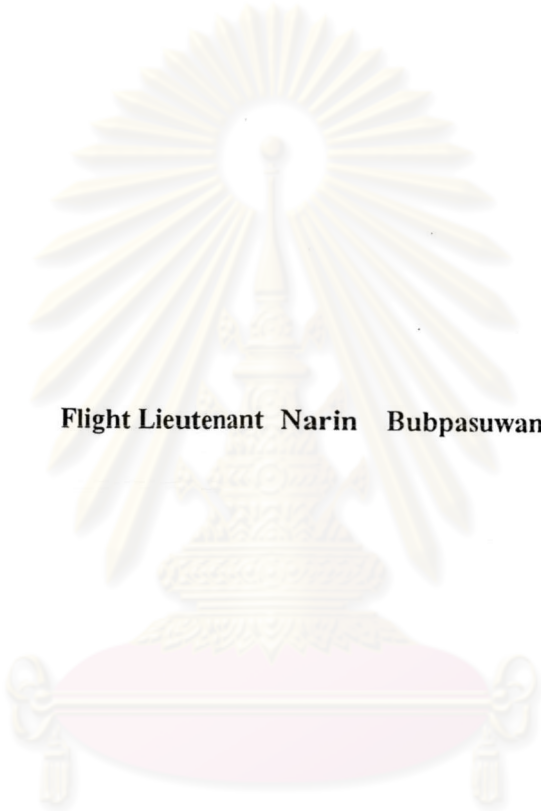
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-1331-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**COMPARATIVE DETERMINATION OF SERUM PARACETAMOL CONCENTRATION BY
GAS CHROMATOGRAPHIC, SPECTROPHOTOMETRIC AND
FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY METHODS**



Flight Lieutenant Narin Bubpasuwan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacology

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2002


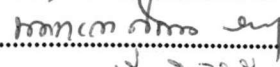
ISBN 974-17-1331-2

นรินทร์ บุปผาสวรรณ, เรืออากาศเอก : การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอล
 ในซีรัมผู้ป่วยระหว่างวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี สเปกโทรโฟโตเมตรี และฟลูออเรสเซนซ์โพลาไรเซชัน
 อิมมูโนแอสเสย์ (COMPARATIVE DETERMINATION OF SERUM PARACETAMOL
 CONCENTRATION BY GAS CHROMATOGRAPHIC, SPECTROPHOTOMETRIC AND
 FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY METHODS) อาจารย์ที่ปรึกษา :
 ผศ. พ.ต.ท.(หญิง) ดร. สมทรง ลาวัญย์ประเสริฐ, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. นवलศรี นวัตกรรมศาสตร์,
 64 หน้า. ISBN 974-17-1331-2

การรักษาความเป็นพิษจากการได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด โดยทั่วไปจะใช้ acetaminophen
 toxicity nomogram เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาว่าผู้ป่วยสมควรได้รับยาแก้พิษจำเพาะหรือไม่ การวิเคราะห์ความเข้มข้น
 ของพาราเซตามอลในซีรัม/พลาสมาของผู้ป่วยจึงเป็นสิ่งสำคัญในการวินิจฉัยความเป็นพิษ แม้ว่าวิธี
 แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) จะเป็นวิธีที่ใช้วิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอล ซึ่งนำมาใช้ในการสร้าง
 acetaminophen toxicity nomogram วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีและฟลูออเรสเซนซ์โพลาไรเซชัน อิมมูโนแอสเสย์
 (FPIA) เป็นวิธีที่ใช้มากกว่าในการจัดการความเป็นพิษกรณีเร่งด่วน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะเปรียบเทียบ
 วิธีวิเคราะห์ทั้งสามวิธีสำหรับวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาด โดยเก็บ
 ตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดจำนวน 41 ราย พบว่าความเข้มข้นของพาราเซตามอล
 ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี มีค่าสูงกว่าค่าที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC และ FPIA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($p < 0.05$) ความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทั้งสามมีความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยมีสมการถดถอย
 เชิงเส้นที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC (Y) กับวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี (X) คือ
 $Y = 0.785X - 5.86$, $R^2 = 0.973$ และสมการถดถอยเชิงเส้นที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC
 (Y) กับวิธี FPIA (X) คือ $Y = 1.116X - 5.583$, $R^2 = 0.986$

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้พร้อมด้วยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมที่ตรวจ
 วิเคราะห์ทั้งสามวิธี และข้อดี ข้อเสียของแต่ละวิธี พบว่าวิธี FPIA และวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเป็นวิธีที่เหมาะสม
 มากกว่าวิธี GC ในการนำมาใช้ในทางปฏิบัติ ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างวิธีวิเคราะห์เป็นข้อมูลเบื้องต้น แสดงถึง
 แนวโน้มที่อาจนำมาประยุกต์ใช้ในทางปฏิบัติเพื่อให้การวินิจฉัยมีความถูกต้องยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษา
 เพิ่มเติมเพื่อให้มีข้อมูลผู้ป่วยจำนวนมากขึ้นที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดที่เวลาต่างๆ นับจากผู้ป่วยได้รับยาจนถึง
 เวลาเจาะเลือด

ภาควิชา เภสัชวิทยา
 สาขาวิชา เภสัชวิทยา
 ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนิติ..... ร.อ. 
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... 
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... นवलศรี นวัตกรรมศาสตร์

4376581233 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEYWORDS: PARACETAMOL / ACETAMINOPHEN / GAS CHROMATOGRAPHY /

SPECTROPHOTOMETRY / FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY

NARIN BUBPASUWAN, FLIGHT LIEUTENANT: COMPARATIVE DETERMINATION OF SERUM PARACETAMOL CONCENTRATION BY GAS CHROMATOGRAPHIC, SPECTROPHOTOMETRIC AND FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY METHODS. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. POL. LT. COL. SOMSONG LAWANPRASERT, Ph. D., THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. NUANSRI NIWATTISAIWONG, 64 pp. ISBN 974-17-1331-2

Acetaminophen toxicity nomogram has been normally used by physicians to decide whether patient should receive a specific antidote for the treatment of paracetamol overdose. Determination of paracetamol concentration in serum or plasma is thus important for diagnosis of the poisoning. Even though gas chromatograph (GC) was a method used to quantify paracetamol concentration for the construction of the nomogram, spectrophotometric and fluorescence polarization immunoassay (FPIA) methods are preferentially used in emergency management. The objective of this study was to compare the concentrations of paracetamol in serum of paracetamol intoxicated patients determined by GC, spectrophotometry and FPIA. Serum samples of 41 paracetamol intoxicated patients were used in the study. The results showed that serum concentration of paracetamol determined by spectrophotometry was significantly ($p < 0.05$) higher than those determined by GC and FPIA. There were linear relationships between serum paracetamol concentrations determined by these three methods. The linear regression equations of serum paracetamol concentrations determined by GC (Y) and spectrophotometry (X) was $Y = 0.785X - 5.86$, $R^2 = 0.973$ whereas that of the concentrations determined by GC (Y) and FPIA (X) was $Y = 1.116X - 5.58$, $R^2 = 0.986$.

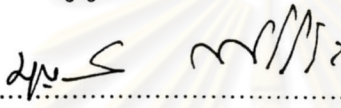
By comparing the concentration of paracetamol obtained, advantage and disadvantage features of various methods used, spectrophotometry and FPIA were more practical than GC. The linear regression equations preliminarily obtained from this study suggested a possibility of using the equations in practice for an improved accuracy of diagnosis. However, additional study with more number of patients at several time points of intoxication was suggested.

DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY
FIELD OF STUDY: PHARMACOLOGY
ACADEMIC YEAR: 2002

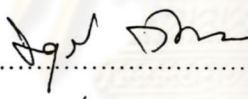
STUDENT'S SIGNATURE
ADVISOR'S SIGNATURE
CO-ADVISOR'S SIGNATURE


หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วย
ระหว่างวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี สเปกโทรโฟโตเมตรี และ ฟลูออเรสเซนซ์
โพลาริเซชัน อิมมูโนแอสเสย์
โดย เรืออากาศเอก นรินทร์ บุษผาสวรรณ
สาขาวิชา เกษัตริศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พ.ศ.ท.(หญิง) ดร. สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ นवलศรี นวัตกรรมวงศ์

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณะบดีคณะเภสัชศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. บุญยงค์ ตันติสิทธิ์)

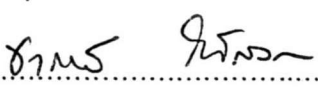
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. มური ตันติสิทธิ์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พ.ศ.ท.(หญิง) ดร. สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ นवलศรี นวัตกรรมวงศ์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วิไลลักษณ์ อิมอุดม)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันทแพทย ชาญชัย ให่สงวน)

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือ และความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พันตำรวจโท หญิง ดร.สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ นวลศรี นิวัตศิขงส์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดที่เป็นประโยชน์ ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ รวมทั้งให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมา จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. มยุรี ดันตีสิริ และรองศาสตราจารย์ ดร. วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาสะดวกเวลาอันมีค่าตรวจสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และกรุณาให้แนวคิดและคำแนะนำต่างๆ เพื่อแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ รัดกุมยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ชาญชัย โห้สงวน ที่ได้ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับสถิติที่ใช้ในการวิจัยนี้ และนาวาอากาศโท พงษ์พีชกร คงพ่วง ที่ช่วยจัดเก็บตัวอย่างซีรัม และให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ในการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่านของภาควิชาเภสัชวิทยาที่ได้กรุณาให้ความรู้ และคำแนะนำตลอดระยะเวลาการศึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณสถาบันนิติเวชวิทยา สำนักงานตำรวจแห่งชาติ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการวิจัย และขอขอบคุณโรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช กรมแพทย์ทหารอากาศที่กรุณาให้ใช้เป็นสถานที่เก็บตัวอย่างงานวิจัย

อนึ่ง เนื่องจากทุนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้บางส่วนได้รับมาจากสมาคมแพทย์ทหารแห่งประเทศไทยฯ จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ท้ายสุดนี้ หากมีประโยชน์ใดๆ ที่เกิดจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องสักการะในความดีของครูอาจารย์ ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ศิษย์ ด้วยความเมตตาตลอดมา

เรืออากาศเอก นรินทร์ บุบผาสุวรรณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
คำย่อ.....	ฐ
บทที่	
1. บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย.....	1
สมมุติฐาน.....	3
วัตถุประสงค์.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
วิธีการดำเนินการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	4
2. การสำรวจ การวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องและทฤษฎี	
พาราเซตามอล.....	5
กลไกการออกฤทธิ์.....	5
เภสัชจลนศาสตร์ และจลนศาสตร์การเกิดพิษ.....	6
ความเป็นพิษ.....	6
ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษ.....	8
อาการเกิดพิษ.....	8
การทำนายผลพิษต่อตับ.....	9
การรักษาโดยการให้ยาแก้พิษ.....	10
กลไกการออกฤทธิ์.....	10
เภสัชจลนศาสตร์.....	10

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การบริหารยา.....	11
อาการข้างเคียง.....	12
การวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัม.....	14
สเปกโทรโฟโตเมตรี.....	14
แก๊สโครมาโทกราฟี.....	14
ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี.....	18
ฟลูออเรสเซนซ์โพลาริเซชัน อิมมูโนแอสเสย์ (FPIA).....	19
หลักการวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วยที่ใช้ในงานวิจัยนี้.....	20
การวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี.....	20
การวิเคราะห์ด้วยสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	20
การวิเคราะห์ด้วยฟลูออเรสเซนซ์โพลาริเซชัน อิมมูโนแอสเสย์.....	22
3. วัสดุและวิธีการดำเนินการวิจัย	
1. ประชากร.....	24
2. สารเคมีและวัสดุ.....	24
3. เครื่องมือ.....	25
4. วิธีการดำเนินการวิจัย.....	25
4.1 การเก็บตัวอย่างซีรัมและบันทึกข้อมูลประวัติผู้ป่วย.....	25
4.2 การทดสอบความถูกต้องของวิธี GC.....	26
4.3 การทดสอบความถูกต้องของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	28
4.4 การทดสอบความถูกต้องของวิธี FPIA.....	29
4.5 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัม ผู้ป่วย.....	31
4.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	31

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4. ผลการทดลอง	
1. การทดสอบความถูกต้องของวิธี GC.....	33
2. การทดสอบความถูกต้องของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	35
3. การทดสอบความถูกต้องของวิธี FPIA.....	37
4. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วย.....	39
5. อภิปรายและสรุปผล	
อภิปรายและสรุปผล.....	46
รายการอ้างอิง.....	50
ภาคผนวก.....	54
ประวัติผู้วิจัย.....	64

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	
1 Phase of acetaminophen poisoning	9
2 วิธีการบริหาร NAC ในผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด	12
3 ประสิทธิภาพของ NAC ในการรักษาความเป็นพิษของพาราเซตามอล ในผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาด	13
4 การทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี ภายในวันเดียวกันและต่างวันกัน โดยใช้สารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล ความเข้มข้น 35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร.....	34
5 การทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี ภายในวันเดียวกันและต่างวันกัน โดยใช้สารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	36
6 การทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ด้วยวิธี FPIA ภายในวันเดียวกัน และต่างวันกัน โดยใช้สารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	37
7 การเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอล ระหว่างวิธี GC สเปกโทรโฟโตเมตรี และ FPIA ด้วยสถิติ Two-way ANOVA.....	41
8 ทดสอบความแตกต่างของวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลระหว่าง วิธี GC สเปกโทรโฟโตเมตรี และ FPIA ด้วยสถิติ Paired-sample t test.....	41
9 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC กับสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	42
10 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC กับ FPIA	43
11 ความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC สเปกโทรโฟโตเมตรี และ FPIA และความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC ที่ คำนวณจากสมการถดถอยเชิงเส้น.....	45

สารบัญญภาพ

		หน้า
รูปที่ 1	Acetaminophen toxicity nomogram	2
2	โครงสร้างของพาราเซตามอล phenacetin และ acetanilide	5
3	กระบวนการเปลี่ยนแปลงพาราเซตามอลในร่างกายและตำแหน่ง การออกฤทธิ์ของ NAC.....	7
4	โครงสร้างของ N-acetylcysteine glutathione methionine และ cysteamine	11
5	ส่วนประกอบของเครื่อง GC-MS	20
6	ปฏิกิริยาการเกิดสีในการวิเคราะห์พาราเซตามอลด้วยวิธี สเปกโทรโฟโตเมตรี	21
7	ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	21
8	หลักการวิเคราะห์พาราเซตามอลในซีรัมโดยวิธี FPIA	22
9	ส่วนประกอบของเครื่อง TDx	23
10	กราฟมาตรฐานแสดงผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ ความเข้มข้นของพาราเซตามอลด้วยวิธี GC	34
11	กราฟมาตรฐานแสดงผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ ความเข้มข้นของพาราเซตามอลด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี	36
12	การกระจายของอายุของผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด.....	38
13	การกระจายของระยะเวลา	39
14	ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วยด้วย วิธี GC สเปกโทรโฟโตเมตรี และ FPIA.....	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 15 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC กับ สเปกโทรโฟโตเมตรี.....	42
16 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC กับ FPIA.....	43



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

APAP	<i>N</i> -acetyl- <i>p</i> -aminophenol
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase
BSA	<i>N,O</i> -bis (trimethylsilyl acetamide)
CYP	cytochrome P450
FPIA	fluorescence polarization immunoassay
GC	gas chromatography
GC-MS	gas chromatography-mass spectrometry
GSH	glutathione
HPLC	high performance liquid chromatography
NAC	<i>N</i> -acetylcysteine
NAPQI	<i>N</i> -acetyl- <i>p</i> -benzoquinone-imine
r	correlation coefficient
R ²	coefficient of determination
TDx	Therapeutic drug excellent
TIC	total ion current
TMSI	<i>N</i> -trimethylsilylimidazole
%CV	% coefficient of variation

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย