

บทที่ 2

วิธีทำการวิจัยและรายละเอียดของอุปกรณ์และสารที่ใช้ในการทดลอง

วิธีทำการวิจัย

1. เตรียมพรีแกรนูลเลเตคไดลูเอน (Pre-granulated diluents) โดยการ
ใช้สารช่วย 3 ชนิด คือ lactose, dicalcium phosphate dihydrate และ icing
sugar โดยนำสารดังกล่าวแต่ละชนิดมาผสมกับแป้งข้าวโพด, polyvinylpyrrolidone
(PVP) แล้วเตรียมเป็นพรีแกรนูลด้วยวิธีผสมเปียก (wet granulation) โดยการเติมน้ำ
ลงไป นำพรีแกรนูลที่ได้แต่ละชนิดมาทดลองตอกเป็น blank tablet โดยวิธีตอกโดยตรง
สารหล่อลื่นที่ใช้คือ aerosil 200, talcum และ magnesium stearate สารช่วยใน
การแตกตัวที่ใช้คือ แป้งข้าวโพด โดยแบ่งใส่เป็น 2 ช่วง คือ ช่วงทำแกรนูล และช่วงผสม
แห้งก่อนตอก สำหรับ dicalcium phosphate dihydrate ใช้ explotab เป็นสาร
ช่วยในการแตกตัวในช่วงผสมแห้งก่อนตอก ทำการตอกโดยใช้ Single Punch Tablet
Machine ใช้ punch ชนิดหน้าแบนเรียบ เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มม. นำ tablet ที่ได้ไป
หาคุณสมบัติทางกายภาพ คือ น้ำหนักเฉลี่ยของเม็ดยา ความแข็ง เพอร์เซนต์ความสึกกร่อน
เวลาการแตกตัว
2. ศึกษาถึงการกระจายขนาดของอนุภาค (particle size distribution),
bulk density, true density และความพรุน (porosity) (15) ของตัวยาสำคัญที่ใช้
ชนิดต่าง ๆ คือ diazepam, isoniazid และ ascorbic acid
3. ศึกษาถึงการกระจายขนาดอนุภาค, bulk density, true density,
ความพรุน และความชื้น (moisture content) ของพรีแกรนูลเลเตคไดลูเอนที่เตรียมได้
จากข้อ 1 ทุกครั้ง ก่อนที่จะนำไปผสมกับตัวยาสำคัญแต่ละชนิด แล้วนำไปตอกโดยวิธีตอกโดยตรง
4. นำยาเม็ดที่ตอกได้มาหาคุณสมบัติทางกายภาพทันที คือ น้ำหนักเฉลี่ยของเม็ดยา,
ความแข็ง, เพอร์เซนต์ความสึกกร่อน, เวลาการแตกตัว, เวลาการละลายตัว และเพอร์เซนต์
ตัวยาสำคัญ

5. หลังจากเก็บพรีแกรนูลเลคเตโคอุเอนที่เตรียมจาก 1 ไว้เป็นเวลานาน 3 เดือน, 6 เดือน และ 9 เดือน นำพรีแกรนูลเลคเตโคอุเอนมาศึกษาการกระจายขนาดของอนุภาค, bulk density, true density, ความพรุน และ ความชื้น ก่อนที่จะนำไปผสมกับตัวยาสสำคัญ แล้วตอกโดยวิธีตอกโดยตรง รวมทั้งตอก blank ด้วยทุกครั้ง ยาเม็ดที่ตอกได้นำไปหาคุณสมบัติทางกายภาพทันที ดังข้อที่ 4

วิธีการเตรียมพรีแกรนูลเลคเตโคอุเอนโดยวิธีผสมเปียก

1. Mixing นำสารช่วยแต่ละชนิดคือ lactose, dicalcium phosphate dihydrate และ icing sugar มาผสมกับแป้งข้าวโพด 5% และ polyvinyl-pyrrolidone 10% ใน Hobart Mixer นาน 15 นาที
2. Granulating เติมน้ำลงไปผสมนาน 15 นาที จนได้ damp mass นำมาผ่านเครื่อง oscillating granulator โดยใช้ตะแกรง stainless เบอร์ 10
3. Drying เกลี่ยในถาดให้สม่ำเสมอ หนาประมาณ 1/2 นิ้ว ออบในตู้อบ 50°c นาน 6 ชั่วโมง
4. Rescreening นำมาแรงด้วยตะแกรง stainless เบอร์ 16

วิธีการหาการกระจายขนาดของอนุภาค โดยใช้เครื่องเขย่าตะแกรง ใช้ตะแกรงมาตรฐานขนาด 20, 40, 60, 80 และ 100 mesh ใช้ตัวอย่าง 100 กรัม ใส่ในเครื่องเขย่าตะแกรงนาน 5 นาที

วิธีการหา true density (15) โดยใช้ pycnometer lactose granule และ ascorbic acid ใช้ chloroform เป็นสารละลายในการหา true density dicalcium phosphate dihydrate granule และ diazepam ใช้น้ำเป็นสารละลาย icing sugar granule และ isoniazid ใช้ ether เป็นสารละลาย

วิธีการคอกยาเม็ดโดยวิธีคอกโดยตรง

1. Mixing นำพรีแกรนูลเลคเตโคอุเอนแต่ละชนิดมาผสมแห้งกับตัวยาสสำคัญที่ใช้ศึกษาแต่ละตัว ตามปริมาณในคำรับ และผสมกับ aerosil 200 1%, talcum 2.5%, magnesium stearate 0.5%, corn starch 5% ผสมกันใน V-Shape Mixer นาน 15 นาที สารทุกตัวที่นำมาผสมแห้งกับพรีแกรนูลเลคเตโคอุเอน จะนำไปแรงผ่านตะแกรงเบอร์ 80 ก่อน

2. Compression นำส่วนผสมที่เข้ากันดีแล้วมาคอกโดยใช้เครื่องคอกชนิด Single Punch Tablet Machine ของโรงงานเหี่ยวเฮง ใช้ punch ชนิดแบน หน้าเรียบ เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มม. น้ำหนักเม็ดยา 200 มิลลิกรัม

ยาเม็ดที่คอกได้นำมาประเมินผลดังนี้

1. หาค่าน้ำหนักโดยเฉลี่ยของยาเม็ด (Average Weight of Tablets) ใช้ ตัวอย่าง 20 เม็ด ซึ่งแต่ละเม็ดโดยใช้ Sartorius Single Pan Balance หน่วยเป็น มิลลิกรัม แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

2. หาค่าความแข็งโดยเฉลี่ยของยาเม็ด (Average Hardness of Tablets) โดยใช้เครื่อง Schleuniger 2 E Hardness Tester หาค่าเฉลี่ยจากเม็ดยา 10 เม็ด

3. หาค่าเปอร์เซ็นต์ความสึกกร่อนของยาเม็ด (Percent Friability) ใช้ Erweka Friabilator Type TA 3 ใช้เม็ดยา 20 เม็ด เวลา 5 นาที

4. หาเวลาการแตกตัวของเม็ดยา (Disintegration Time of Tablets) ตามมาตรฐาน USP XXI

5. หาเปอร์เซ็นต์การละลายของตัวยาสำคัญของยาเม็ด (Dissolution Test of Tablets) ตามมาตรฐาน USP XXI (16) ดังนี้

5.1 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Isoniazid เป็นตัวยาสำคัญ

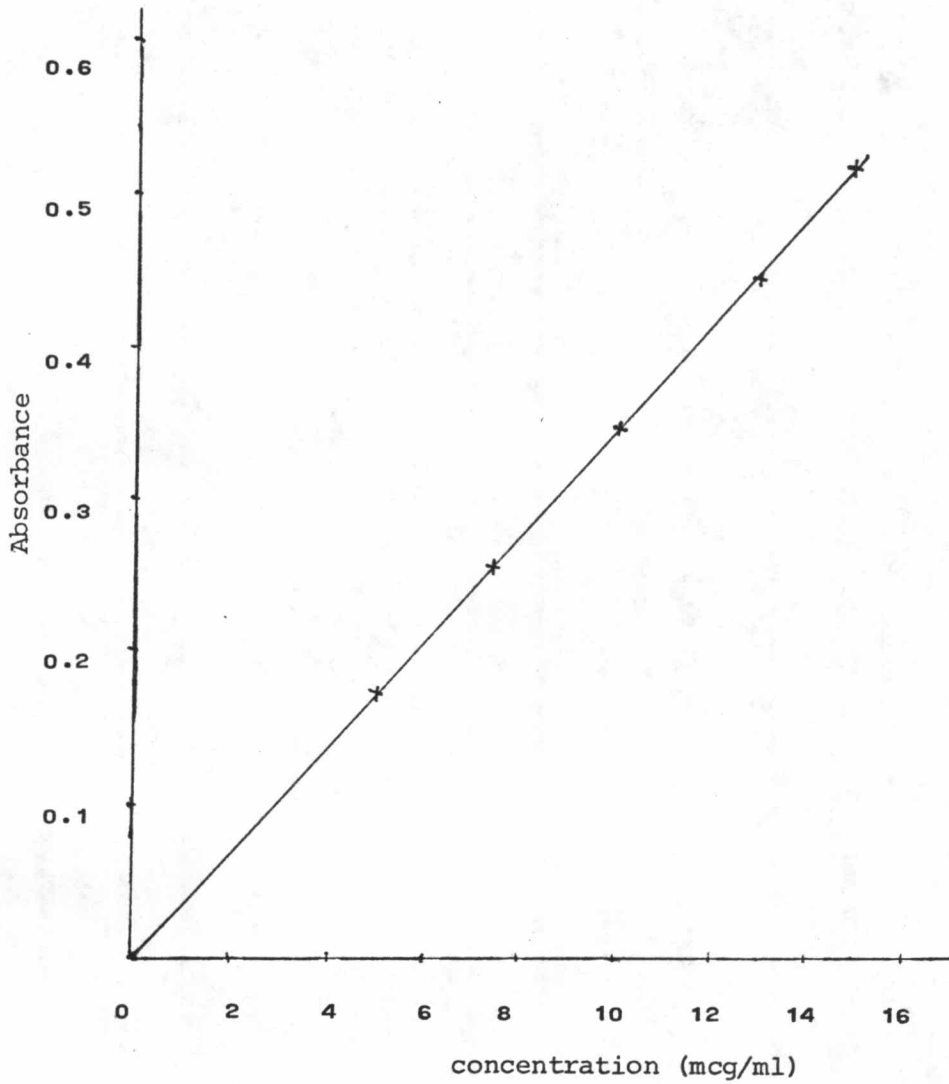
เตรียม Dissolution Tester ตามมาตรฐาน USP XXI โดยใช้ 0.1 N HCl 900 ml เป็น dissolution medium และควบคุมอุณหภูมิคงที่ที่ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ปรับความเร็วที่ 100 rpm. เมื่อครบเวลา 45 นาที นำ dissolution medium กรองผ่านกระดาษกรอง whatman # 1 โดยทิ้งส่วนแรกไป pipet filtrate มา 5 ml เติม 0.1 N hydrochloric acid จนครบ 50 ml ใน volumetric flask นำไปวัดค่า absorbance ที่ ความยาวคลื่น 263 nm คำนวณหาความเข้มข้นของสารได้จาก standard curve

Standard curve เตรียมสารละลายมาตรฐาน Isoniazid ใน dissolution medium ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน นำไปวัดค่า absorbance ที่ 263 nm และ plot กราฟ ระหว่างค่า absorbance กับความเข้มข้น ได้ดังรูปที่ 4 เป็นไปตาม Beer's law

5.2 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Ascorbic acid เป็นตัวยาสำคัญ

เตรียม Dissolution Tester ตามมาตรฐาน USP XXI ใช้ 0.1 N HCl 900 ml เป็น dissolution medium และควบคุมอุณหภูมิคงที่ที่ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ปรับความเร็ว

012769



รูปที่ 4 standard curve จากการ plot กราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของ isoniazid กับค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 263 nm slope = 0.035726 (n=2)

ที่ 100 rpm เมื่อครบเวลา 30 นาที นำ dissolution medium กรองผ่านกระดาษกรอง whatman # 1 ทิ้ง filtrate แรก คว่ง filtrate มา 250 ml โดยใช้ volumetric flask นำไปติเตรตกับ 0.01 N Iodine volumetric solution ใช้ starch TS. 3 ml เป็น indicator 0.01 N Iodine VS. 1 ml สมมูลย์กับ Ascorbic acid 0.8806 mg

5.3 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Diazepam เป็นตัวยาสำคัญ

เตรียม Dissolution Tester ตามมาตรฐาน USP XXI ใช้ 0.1 N HCl 900 ml เป็น dissolution medium และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ปรับความเร็วที่ 100 rpm เมื่อครบเวลา 30 นาที นำ dissolution medium กรองผ่านกระดาษกรอง whatman # 1 ทิ้ง filtrate แรก นำไปวัด absorbance ที่ 242 nm คำนวณหาความเข้มข้นของสารได้จาก standard curve

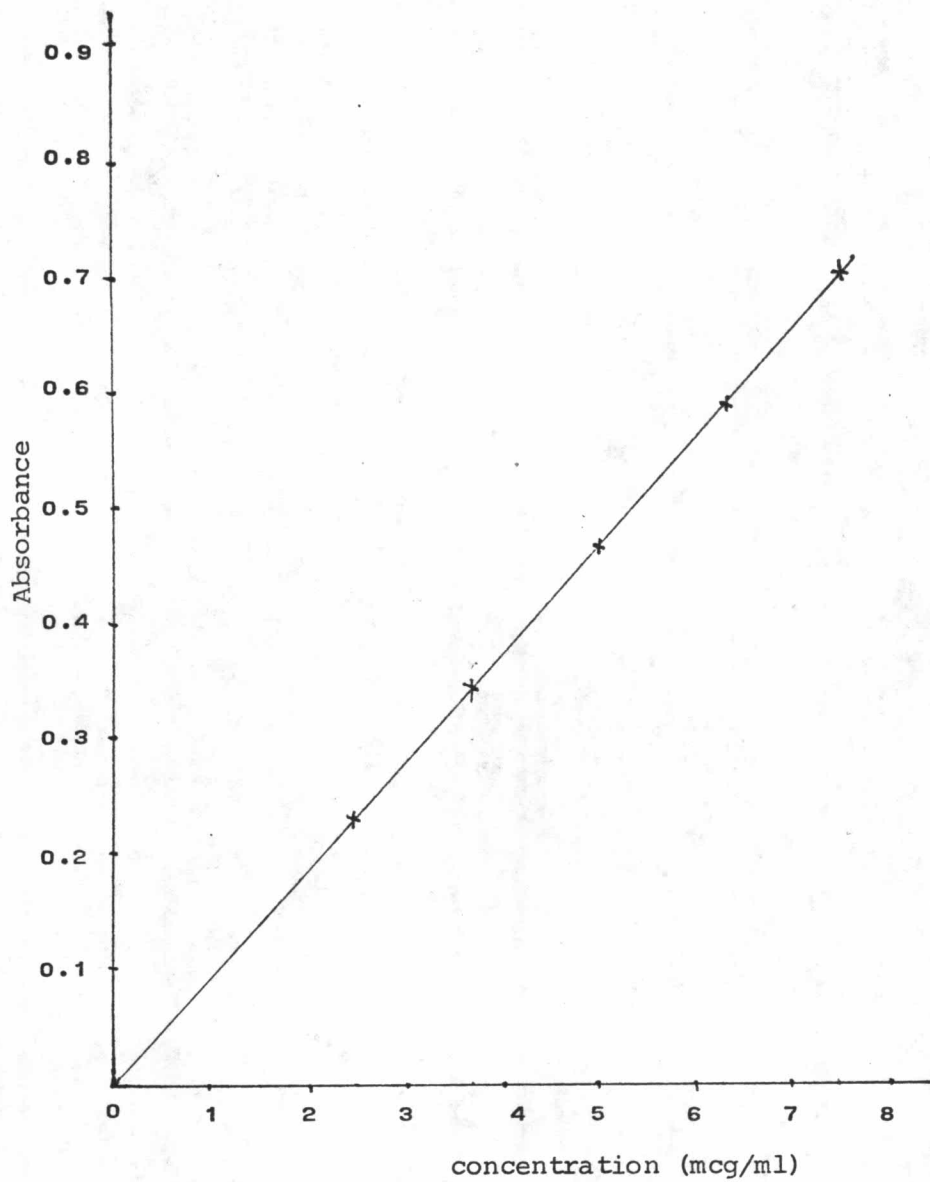
Standard curve เตรียมสารละลายมาตรฐาน Diazepam ใน dissolution medium ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน นำไปวัดค่า absorbance ที่ 242 nm และ plot กราฟระหว่างค่า absorbance กับความเข้มข้น ดังรูปที่ 5 เป็นไปตาม Beer's law

6. หาเปอร์เซ็นต์ความแรงของตัวยาสำคัญของยาเม็ดตามที่ระบุไว้ในสูตรตำรับ

(Percent Label Amount of Tablets) ดังนี้

6.1 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Isoniazid เป็นตัวยาสำคัญ (17)

ซึ่งตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บดจนเป็นผง ซึ่งผงยาให้มี Isoniazid ประมาณ 100 mg โดยร่อนน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ volumetric flask 100 ml เติมน้ำ 80 ml เขย่าเป็นเวลา 30 นาที เติมน้ำจนครบปริมาตร กรองผ่านกระดาษกรอง whatman # 1 ทิ้ง filtrate แรก pipet filtrate มา 10 ml เติมน้ำจนครบ 100 ml ใน volumetric flask pipet สารละลายครึ่งหลังมา 10 ml เติม 0.1 N hydrochloric acid 10 ml เติมน้ำจนครบปริมาตร 100 ml นำไปวัดค่า absorbance ที่ 260 nm เทียบกับ standard solution ที่เตรียมจาก Reference Standard Isoniazid โดยวิธีการเช่นเดียวกับ sample สำหรับ blank ใช้ Tablet excipient ซึ่งไม่มีตัวยาสำคัญอยู่เลย มาเตรียมเป็น solution ดังวิธีข้างต้นทุกประการ



รูปที่ 5 standard curve จากการ plot กราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของ diazepam

กับค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 242 nm slope = 0.092072 (n=2)

Weight (mg) of Isoniazid per tablet

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

โดยที่ A_u : Absorbance of unknown sample
 A_s : Absorbance of standard Isoniazid
 C_s : Weight (mg) of standard Isoniazid

6.2 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Ascorbic acid เป็นตัวยาสำคัญ (18)

ซึ่งตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บดจนเป็นผง ซึ่งผงยาให้มี Ascorbic acid ประมาณ 400 mg ละลายในสารผสม carbon dioxide-free water 100 ml และ diluted sulfuric acid 25 ml ดิเตรททันทีกับ 0.1 N Iodine VS. ใช้ starch TS. 3 ml เป็น indicator 0.1 N Iodine VS. 1 ml สมมูลกับ Ascorbic acid 8.806 mg

6.3 ยาเม็ดที่เตรียมโดยใช้ Diazepam เป็นตัวยาสำคัญ (19)

ซึ่งตัวอย่างยาเม็ดจำนวน 20 เม็ด บดจนเป็นผง ซึ่งผงยาให้มี Diazepam ประมาณ 10 mg โดยร่อนน้ำหนักที่แน่นอนใส่ Volumetric flask 100 ml เติมน้ำ 5 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เติม 0.5% w/v sulphuric acid in methanol 90 ml เขย่า 15 นาที เติมสารละลาย sulphuric acid in methanol จนครบปริมาตร 100 ml กรองผ่านกระดาษกรอง whatman # 1 ทิ้ง filtrate แรก pipet filtrate มา 10 ml เติมสารละลาย sulphuric acid in methanol จนครบปริมาตร 100 ml นำไปวัดค่า absorbance ที่ 284 nm เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมจาก Reference Standard Diazepam โดยวิธีการเช่นเดียวกับ sample และใช้สารละลาย sulphuric acid in methanol เป็น blank

Weight (mg) of Diazepam per tablet

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

โดยที่	A_u	:	Absorbance of unknown sample
	A_s	:	Absorbance of standard Diazepam
	C_s	:	Weight (mg) of standard Diazepam

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. ถู้อบ (Tray type dryer)
9. เครื่องชั่ง Two Pan Balance (OHAUS)
10. เครื่องคอกยาเม็ดชนิด single punch ของโรงงานเหี้ยวเฮง พร้อม punch และ die ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มม. ชนิดแบนหน้าเรียบ
11. Hardness Tester Mod. 2E/205 ของ Dr. K. Schleuniger & Co (Made in Switzerland)
12. Erweka Friabilator Type TA 3
13. เครื่องชั่ง Torsion Balance
14. USP Disintegration Test Apparatus
15. เครื่องชั่งไฟฟ้า Mettler Single Pan Balance (H 31) capacity 160 กรัม ซึ่งได้ละเอียด 0.0001 กรัม
16. Series of sieve ตะแกรงขนาด 20, 40, 60, 80, 100 mesh (Endocotts Ltd., England)
17. Shaker
18. Spectrophotometer

19. USP Dissolution Test Apparatus Type I (Hanson Research Corporation, Model 500-230, Northridge, California, U.S.A.)

20. Moisture Determination Balance (OHAUS)

สารที่ใช้ในการทดลอง

1. Lactose, USP (DMV, Holland)
2. Dicalcium Phosphate Dihydrate (Travimex, W. German)
3. Icing sugar (ห้างหุ้นส่วนจำกัด เสรีวัฒน์ ประเทศไทย)
4. Corn starch (Mizena, German)
5. Polyvinylpyrrolidone K 30 (BSF, W. German)
6. Diazepam (Product of China)
7. Isoniazid BP (Iwaki & Co. Ltd., Japan)
8. Ascorbic acid coated (Germany)
9. Aerosil 200 (Degussa, W. German)
10. Talcum BP (Shin Industrial, Korea)
11. Magnesium stearate BP (Durham Chemicals Ltd., U.K.)
12. Explotab (Avebe chemical, Holland)
13. Hydrochloric acid (Riedel)
14. Sulfuric acid (Carlo ERBA)
15. Iodine Resublimed (May & Baker)
16. Potassium iodide (May & Baker)
17. Arsenic trioxide (May & Baker)
18. Sodium hydroxide (Croft Laboratories Ltd.)
19. Methyl orange indicator (E. Merck)
20. Sodium bicarbonate (May & Baker Ltd.)
21. Distilled water