

วิธีดำเนินการวิจัยและรายละเอียดอุปกรณ์ทดลองจนสารที่ใช้ในการวิจัย

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

1. หาคความยาวคลื่น (wavelength, λ) ที่จะให้ค่า Absorbance สูงสุด (8, 17, 35, 36) ของตัวยา 13 ชนิดกเว้นยาฉีดโคอะซีแอมโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของตัวยาแต่ละชนิดในสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์กลูโคสในน้ำ ที่มีความเข้มข้นหนึ่ง (8, 17, 37) (ตามตารางที่ 9-21) แล้วนำสารละลายเหล่านี้มาวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ ด้วยเครื่องสเป็คโตรโฟโตเมเตอร์
2. ทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของตัวยาทั้ง 13 ชนิดกับค่า Absorbance โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของตัวยาที่ทดลองในสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์กลูโคสในน้ำ จำนวน 9 ความเข้มข้น โดยประมาณให้วัดค่า Absorbance อยู่ในช่วงระหว่าง 0 ถึง 2 (ตารางที่ 22 - 34) โดยทำการวัดที่ความยาวคลื่นซึ่งให้ค่า Absorbance สูงสุดในช่วงที่เหมาะสมของตัวยาแต่ละชนิด (λ_{max})

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานลักษณะเช่นนี้อีก 2 ถึง 3 ชุด เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองที่ได้เมื่อได้ผลการทดลองขั้นนี้แล้วให้นำค่า Absorbance และความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน แล้วหาสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Absorbance และความเข้มข้น โดยอาศัย Least square test (38) คักลิน

3. คำเนินการคัดเลือกตัวยาขั้นแรก (Preliminary Screening) ดังนี้
 1. นำยาขณะบรรจุพลาสติกชนิดโปลีเอทิลีน พีวีซี ซึ่งใช้บรรจุสารละลายที่ใช้สำหรับฉีดเข้าเส้นเลือดมาคักกรองบริเวณที่ไม่มีตัวหนังสือเป็นแผ่นขนาด 1.5×10 เซนติเมตร
 2. นำแผ่นพลาสติกนี้มาล้างด้วยน้ำกลั่นและวางทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (27 \pm 1

องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 คืน

3. เตรียมสารละลายของควิยาแต่ละชนิดในสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์กลูโคสในน้ำ ให้ความเข้มข้นตามตารางที่ 1 (37,39) ปริมาณ 500 มิลลิลิตรแล้ววัดค่า Absorbance เริ่มแรกกับความยาวคลื่นซึ่งให้ค่า Absorbance สูงสุดในช่วงที่เหมาะสม

4. นำสารละลายที่เตรียมขึ้นนี้ใส่หลอดแก้ว 15 หลอด หลอดละ 25 มิลลิลิตร

5. นำหลอดแก้วที่มีสารละลายของควิยาบรรจุอยู่ 5 หลอดแรกมาใส่แผ่นพลาสติกชนิดพีวีซีหลอดละ 1 แผ่น หลอดที่ 6 ถึง 10 นำมาใส่แผ่นพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนหลอดละ 1 แผ่นเช่นกัน ส่วนหลอดที่ 11 ถึง 15 ไม่ใส่แผ่นพลาสติกให้เก็บเป็นหลอดควบคุม (control)

6. ปีกปากหลอดแก้วควิยากระเพาะพาราไทม์และหุ้มควิยากระเพาะอะลูมิเนียม นำมาเก็บที่อุณหภูมิห้อง

7. นำสารละลายเหล่านี้มาวัดค่า Absorbance ภายหลัง 24 ชั่วโมง

8. คำนวณปริมาณควิยาที่สูญหายเนื่องจากพลาสติกคิดเป็นร้อยละ

4. ทดลองใช้ภาชนะชนิดต่างๆ บรรจุสารละลายผสมที่เตรียมขึ้น (Whole bag) คือ แก้วโพลีเอทิลีน และพีวีซี ว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความแรงของควิยาหรือไม่

เตรียมสารละลายของควิยาต่าง ๆ ซึ่งพบว่ามี การเปลี่ยนแปลงของความแรงมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ (ซึ่งเป็นผลการทดลองที่พบในขั้นแรก) ให้ความเข้มข้นตามตารางที่ 3 - 5 แล้วบรรจุในภาชนะพลาสติกชนิดพีวีซี โพลีเอทิลีน และขวดแก้ว ชนิดละ 1000 มิลลิลิตร นำสารละลายเหล่านี้วัดค่า Absorbance เริ่มแรกกับความยาวคลื่นที่ให้ค่า Absorbance สูงสุดในช่วงที่เหมาะสมและเก็บภาชนะเหล่านี้ที่อุณหภูมิห้อง ภายหลัง 1, 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง ให้วัดค่า Absorbance ใหม่ทำการเปรียบเทียบความแรงที่เปลี่ยนแปลงของควิยาในภาชนะที่ใช้บรรจุทั้ง 3 ชนิดโดยใช้การทดสอบที (t-test)

หมายเหตุ 1. สารละลายกรกแอสคอบิกให้เติมโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ปริมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวยับยั้งการออกซิไดส์

2. สารละลายของวิตามิน เอ วิตามินดี วิตามินอี ให้เติมทวิน 80 ในปริมาณ 0.02 เปอร์เซ็นต์ (8)

3. ท้ายา 13 ชนิด ให้นำตัวอย่างมาหาค่า Absorbance ที่ทันที สำหรับยาคัด โคอะซีแพมให้นำมาทำการวิเคราะห์ดังนี้ (7, 17, 35, 40)

หาค่า $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ ของโคอะซีแพม

ชั่งผงโคอะซีแพม บี ที หนัก 0.1000 กรัมใส่ขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตรแล้วเติม หนึ่งนอร์มอลของกรดเกลือ (1 N.HCl) จนปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้เป็นสารละลาย ก.

นำสารละลาย ก. มา 5 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยหนึ่ง นอร์มอลของกรดเกลือ เก็บไว้เป็นสารละลาย ข. ซึ่งจะมีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

นำสารละลาย ข. มา 5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์กลูโคสในน้ำจำนวน 5 มิลลิลิตร เอทานอลบริสุทธิ์ 3 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตรด้วยหนึ่งนอร์ มอลของกรดเกลือ นำสารละลายสุดท้ายนี้มาวัดค่า Absorbance ที่ 361 nm. (ตารางที่ 35)

Blank คือสารผสมของสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์น้ำตาลกลูโคสในน้ำจำนวน 5 มิลลิลิตร เอทานอลบริสุทธิ์ 3 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร ด้วยหนึ่งนอร์ มอลของกรดเกลือ

วิธีการหาปริมาณโคอะซีแพมจากสารละลายตัวอย่าง

นำสารละลายตัวอย่างจากสารละลายผสมที่ทดลองมาจำนวน 5 มิลลิลิตร เติมเอทานอล บริสุทธิ์ 3 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตรด้วยหนึ่งนอร์มอลของกรดเกลือ แล้วนำ มาวัด Absorbance ที่ 361 nm.

007592

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. หลอดแก้วขนาด 50 มิลลิลิตร
2. กระจกฉีกชนิดทำด้วยแก้วขนาด 5 มิลลิลิตร
3. ขวดแก้วไพเรกซ์ขนาด 25, 50, 100, 250, 500, 1000 และ 2000 มิลลิลิตร
4. ถ้วยทองขนาด 25, 50, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
5. หลอดแก้วสำหรับกวนน้ำยาพร้อมลูกยาง.
6. บีเปคซ์ขนาด 1, 2, 3, 5, 10 และ 50 มิลลิลิตร
7. กรวยแก้ว
8. เซลควอทซ์ 1 คู่
9. ปรอทสำหรับวัดอุณหภูมิ
10. กระจกอะลูมิเนียม
11. กระจกพาราฟิล์ม
12. เครื่องปั่น
13. เครื่องอุณหมาตรไวโอลีท สเต็ปโทโครโฟโตเมเตอร์
14. เครื่องชั่งไฟฟ้าซาร์ตอเรียส (Sartorius) รุ่น 2442 ซึ่งชั่งน้ำหนักอย่าง
น้อย 0.1 มิลลิกรัม และชั่งได้สูงสุด 200 กรัม

กัวยาและเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ (Thiamine HCl) USP ของบริษัท ไทร
2. ไรโบฟลาวิน ไฮโดรคลอไรด์ (Riboflavin HCl) USP ของบริษัท ไทร
3. นีอาซินาไมด์ (Niacinamide) ของบริษัท ไทร
4. ลิดอเคน ไฮโดรคลอไรด์ (Lidocaine HCl) ของบริษัท Co. Farmaceutica
Milanese S.R.L.
5. คลอแรมเฟนิคอล (Chloramphenicol) ของบริษัท เลอเบ็ค

6. เทตราไซคลิน ไฮโดรคลอไรด์ (Tetracycline HCl) ของบริษัท
China National Chem & Imported Export Corporation.
7. ออกซิเทตราไซคลิน ไฮโดรคลอไรด์ (Oxytetracycline HCl) ของบริษัท
Pharmaceutical and Chemical work ZATRED ประเทศยูโกสลาเวีย
8. วิตามิน อี อะซิเตท (D.L-2-Tocopheryl acetate) ของบริษัททาเคคา
9. ไซยาโนโคบาลามิน (Cyanocobalamin) ของบริษัททาเคคา
10. กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เอ ฮาร์ ของบริษัท เมอร์ค
11. ไพริดอกซีน ไฮโดรคลอไรด์ (Pyridoxine HCl) ของบริษัทโรช
12. วิตามิน ดี-สอง ชนิด 850 (Vitamin D₂ type 850) ของบริษัทโรช
13. วิตามินเอ อะซิเตท (Vitamin A acetate) ของบริษัท BASS.
14. ไโคเซซีแพม (Diazepam) B.P. ของบริษัท Fadrice Italiana
Sirtetici
15. ยาฉีดไโคเซซีแพม (Diazepam injection, Monoxide[®]) ของบริษัท
พี ที เคมีคอลจำกัด
16. เอทานอลบริสุทธิ์ (Ethanol absolute) ของบริษัท Riedel-De
Hain ag Seelze-Hannover
17. กรดเกลือ (HCl) เอ ฮาร์ ของบริษัท B.D.H
18. โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (Sodium metabisulfite) ของบริษัทเมอร์ค
19. ทวิน 80 (Tween 80) ของบริษัท Green Chemical Nippon Oil
and Fat
20. 5 เปอร์เซ็นต์น้ำทาลุกูโคสในน้ำ (D 5w) ของบริษัทบอร์เนียวและส.เจวิญ
เกสซ์
21. ภาชนะพลาสติกชนิดพีวีซีขนาด 1000 มิลลิลิตรหมายเลขผลิตภัณฑ์ 203103 ของ
บริษัท บอร์เนียว
22. ภาชนะพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนขนาด 1000 มิลลิลิตรหมายเลขผลิตภัณฑ์ 54603 ของ
บริษัท ส. เจวิญเกสซ์