

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีที่ใช้

1. นีโอมีซิน ซัลเฟต (Upjohn Co., Kalamazoo, Mich.)
2. คาโอลิน (Light Kaolin, Evans Medical, Liverpool, England.)
3. แอคทีเวท แอททอพัลไลท์ (Pharmasorb, Engelhard, Edison, N.J.)
4. เบนโทไนท์ (Clark and Daniels, Inc, South Plainfield, N.J.)
5. วิกัม (Vanderbilt, R.T., Co., Inc. New York, N.Y.)
6. กรดเกลือเข้มข้น (HCl, AJAX, Chemicals Ltd., Sydney, Australia.)
7. โซเดียม คลอไรด์ (NaCl, May & Baker, Ltd., Dagenham, England.)
8. โพแทสเซียม คลอไรด์ (KCl, BDH Chemicals Ltd., Poole, England.)
9. แคลเซียม คลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , E. Merck, Darmstadt, Germany.)
10. แมกนีเซียม คลอไรด์ ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , J.T. Baker Chemicals. Co.,  
Phillipsburg, N.J.)
11. อลูมิเนียม คลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , BDH Chemicals, Poole, England.)

1. การทำกราฟมาตรฐานสำหรับ นีโอมีซิน

1.1 จาก working standard ของนีโอมีซิน ซัลเฟต (ซึ่งทราบค่าเทียบ-  
เท่าความเข้มข้นของ นีโอมีซิน เบส คือ 640 มก./มก.) ซึ่งตัวยวามีประมาณ  
100, 200, 300, 400, 500 มก. ทำเป็นสารละลายด้วยน้ำกลั่น ใน 100 มล. volumetric  
flasks คำนวณหาค่าความเข้มข้นของ นีโอมีซิน ที่แท้จริง ในแต่ละตัวอย่าง เช่น

ชั่งนํ้าอมัยซิน ซัลเฟต มา 117 มก. ทำเป็นสารละลาย 100 มล.  
 นํ้าอมัยซิน ซัลเฟต 1 มก. เทียบเท่า นํ้าอมัยซิน เบส เท่ากับ 0.64 มก.  
 ∴ สารละลายนั้นมีความเข้มข้นของ นํ้าอมัยซิน  $\frac{117 \times 0.64}{100} = 0.75$  มก./มล.

1.2 จากสารละลายของนํ้าอมัยซินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ในข้อ 1.1  
 นำมา วิเคราะห์เพื่อหาค่า absorbance ดังต่อไปนี้ (33)

ไปเปิด สารละลายของ นํ้าอมัยซิน มา 3 มล. ใส่ในหลอดแก้วทดลองที่มีจุกปิด ทำ  
 ให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง ในขณะที่กำลังแช่หลอดแก้วอยู่นี้เติมกรดเกลือเข้มข้น 2 มล. เขย่า เข  
 ค่อยกัน ปิดจุก และจุ่มลงในอ่างน้ำเค็มคอนาน 60 นาที ระดับน้ำในอ่างน้ำเค็มจะคงอยู่เหนือ  
 ระดับนํ้ายาในหลอดแก้วเสมอ เมื่อตรวจจนครบกำหนดแล้ว จึงนำมาแช่น้ำแข็งต่อไป นํ้านํ้ายานี้มาใส่  
 ใน 50 มล. volumetric flask เจือจาง ให้ครบปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปวัด  
 absorbance ของ เพอฟูราด ที่เกิดขึ้นโดยสเป็คโตรโฟโตมิเตอร์ (Hitachi Perkin-Elmer  
 Model 139 UV-VIS Spectrophotometer) โดยใช้สารละลาย กรด เกลือ 4%  
 เป็น Blank วัดที่ 277 nm.

ค่า absorbance ที่ได้จะสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของนํ้าอมัยซินที่มีอยู่  
 ในสารละลายข้อ 1.1 เขียนกราฟระหว่าง absorbance กับ ความเข้มข้นของนํ้าอมัยซิน  
 จะได้เป็นเส้นตรง เป็นกราฟมาตรฐาน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณนํ้าอมัยซินเป็น มก./มล.  
 (วิธีนี้ ใช้ เฉพาะในการวิจัยเท่านั้น เพราะเป็นวิธีที่ง่าย และในสารละลายไม่มี  
 คาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ เจือปน)

## 2. การเตรียมนํ้าอมัยซิน-เคลย์ แอดซอบเบค

2.1 เตรียมสารละลายของ นํ้าอมัยซิน ซัลเฟต 0.5% ในน้ำกลั่นเพื่อเป็นตัวควบคุม  
 (control) โดยชั่ง นํ้าอมัยซิน ซัลเฟต มา 250 มก. ละลายน้ำกลั่นให้เป็นสารละลาย 50มล.

2.2 เตรียมเคลย์ ชนิดต่าง ๆ คือ คาโอลิน, แอคติเวท แอทธาพัลไลท์, เบนโทไนท์และวิกัม โดยชั่งมาอย่างละ 500 มก. ให้พองตัวในน้ำร้อน 60° ซ ประมาณ 25 มล. โดยเฉพาะ เบนโทไนท์ และวิกัม ทิ้งไว้ให้พองตัวเต็มที่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เคลย์ แต่ละชนิดเตรียม 5 ตัวอย่าง

ชั่ง นีโอมีซิน ซัลเฟต มา 250 มก. ละลายในน้ำกลั่น 10 มล. เติมลงใน ตัวอย่างของเคลย์แต่ละชนิด เขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 50 มล. เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างซึ่งมี นีโอมีซิน ซัลเฟต 0.5% เคลย์ 1% เก็บตัวอย่างเหล่านี้ไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 3^{\circ}\text{ซ}$ ) หาปริมาณของนีโอมีซินที่ไม่ถูกดูดซับโดยเคลย์แต่ละชนิดในเวลา 24 ชั่วโมง และทุกสัปดาห์เป็นเวลา 1 เดือน (4 สัปดาห์) โดยเอาตัวอย่างมาเขย่าให้เข้ากันแล้วเข้า เครื่องเหวี่ยงจนได้น้ำข้างบนใส นำมาวิเคราะห์หาปริมาณนีโอมีซิน ตามวิธีที่กล่าวไว้ใน การทำกราฟมาตรฐาน ขอ 1.2

สำหรับตัวควบคุม นำมาวิเคราะห์หานีโอมีซิน เช่นเดียวกันเพื่อจะได้เปรียบเทียบว่าเหลือนีโอมีซินที่ไม่ถูกดูดซับมากน้อยแค่ไหนในระยะเวลาต่าง ๆ กัน และแสดงว่า เคลย์แต่ละชนิดดูดซับนีโอมีซินได้แตกต่างกันอย่างไร.

### 3. การเติมอิเล็กโทรไลต์ ลงในนีโอมีซิน-เคลย์ แอคซอมเบค

3.1 จากการทำนีโอมีซิน-เคลย์ แอคซอมเบค ทำให้ทราบว่าเคลย์แต่ละชนิดจะดูดซับนีโอมีซินได้สมคูลย์ ในเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้น เตรียมนีโอมีซิน-เคลย์ แอคซอมเบคตามวิธีในข้อ 2.2 ที่กล่าวมาแล้ว แต่เมื่อเติมสารละลายของนีโอมีซิน ซัลเฟต ลงไปแล้วเขย่าให้เข้ากัน ยังไม่ตองเจือจางให้ครบ ปริมาตร 50 มล. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 - ชั่วโมง เคลย์แต่ละชนิดเตรียม 25 ตัวอย่าง

3.2 เตรียมอิเล็กโทรไลต์ คือ โซเดียม คลอไรด์, โพแทสเซียม คลอไรด์, แคลเซียม คลอไรด์, แมกนีเซียม คลอไรด์, อลูมิเนียม คลอไรด์ โดยชั่งอิเล็กโทรไลต์ แต่ละชนิดมาละลายในน้ำกลั่นประมาณ 10 มล. แล้วเติมลงใน นีโอมีซิน-เคลย์ แอคซอมเบค เขย่าให้เข้ากัน เจือจางควยน้ำกลั่นให้ครบ 50 มล. จะได้ปริมาณของอิเล็กโทรไลต์แต่ละชนิดใน

ตัวอย่างที่เตรียมไว้ มีความเข้มข้นของ อิเล็กโทรไลต์ประจุบวก 100, 200, 300, 400, 500 mEq/L เช่น เตรียม นีโอมัยซิน-คาโอดิน แอคซอบเบค 25 ตัวอย่าง

5 ตัวอย่างเติมโซเดียม คลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 500 mEq/L ของ  $\text{Na}^+$  ตามลำดับ

สำหรับ 20 ตัวอย่างแยกเติม อิเล็กโทรไลต์ ตามที่กล่าวมาแล้ว อย่างละ 5 ตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เช่นเดียวกับโซเดียม คลอไรด์

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณ อิเล็กโทรไลต์ เพื่อให้มีความเข้มข้นของ อิเล็กโทรไลต์ ประจุบวก ตามต้องการ (20)

โซเดียม คลอไรด์ 58.5 มก. มี  $\text{Na}^+$  1 mEq

$$\text{ความเข้มข้น } \text{Na}^+ \quad 100 \text{ mEq/L} = 10 \text{ mEq} / 100 \text{ ml} = 5 \text{ mEq} / 50 \text{ ml}$$

∴ ตัวอย่าง 50 มล. ต้องชั่งโซเดียม คลอไรด์ มา  $58.5 \times 5 = 292.5$  มก.

3.3 หลังจากเติม อิเล็กโทรไลต์ ทั้งทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เกิดสมมูลย์เป็น เวลา 6 ชั่วโมง เขย่าให้เข้ากัน แล้วเขย่าเครื่องเหวี่ยง จนได้นำข้างบนใส นำมาวิเคราะห์หาปริมาณนีโอมัยซินที่ไม่ถูกดูดซับ ตามวิธี ข้อ 1.2 ว่าอิเล็กโทรไลต์ที่มี วาเลนซ์ และ ความเข้มข้นต่าง ๆ กันทำให้ปริมาณของนีโอมัยซินเพิ่มขึ้นได้มากน้อยแค่ไหน โดยให้ปริมาณของนีโอมัยซินที่ได้จากนีโอมัยซิน-เคลย์ แอคซอบเบค ในข้อ 2.2 ซึ่งเก็บไว้เป็นเวลา 24 - ชั่วโมง เป็นตัวควบคุม

#### 4. การเตรียม นีโอมัยซิน-เคลย์ แอคซอบเบค เมื่อเพิ่มปริมาณ คาโอดิน และ แอคติเวท แอทธาพัลไลท์

4.1 จากข้อ 2.2 แต่ละตัวอย่างประกอบด้วย นีโอมัยซิน ซัลเฟต 0.5% เคลย์ 1% แต่ใน antidiarrheal suspensions ทั่ว ๆ ไป (15, 16)

มีนีโอมัยซิน ซัลเฟต 1% และเคลย์ ที่นิยมใช้คือ คาร์โอดิน และ แอคติเวท แอททาพัลโจท์ ใช้ประมาณ 15-20% จึงเตรียม นีโอมัยซิน-คาร์โอดิน แอคซอบเบค และนีโอมัยซิน-แอคติเวท แอททาพัลโจท์ แอคซอบเบค อีกโดยใช้นีโอมัยซิน ซัลเฟต 0.5% เท่าเดิม, คาร์โอดินและ แอคติเวท แอททาพัลโจท์ ใช้ 8% คือ ประมาณครึ่งหนึ่งของที่นิยมใช้ใน antidiarrheal suspensions เช่นเดียวกับนีโอมัยซิน ซัลเฟต

วิธีเตรียม เช่นเดียวกับข้อ 2.2 แต่ชั่ง คาร์โอดิน และแอคติเวท แอททาพัลโจท์ มาตัวอย่างละ 4 กรัม เตรียมอย่างละ 5 ตัวอย่าง

4.2 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หาปริมาณนีโอมัยซินที่ไม่ถูกดูดซับ ในแต่ละตัวอย่าง ในเวลา 24 ชั่วโมง และทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ด้วยวิธีเดียวกับข้อ 2.2

เปรียบเทียบกว่า เมื่อเพิ่มปริมาณ คาร์โอดิน และ แอคติเวท แอททาพัลโจท์ ปริมาณ นีโอมัยซิน ที่เหลืออยู่จะลดลง มากน้อย แค่ไหน โดยใช้ปริมาณนีโอมัยซิน ในข้อ 2.1 เป็นตัวควบคุม

##### 5. การเติม อิเล็กโทรไลต์ ลงใน นีโอมัยซิน-คาร์โอดิน แอคซอบเบค และนีโอมัยซิน-แอคติเวท แอททาพัลโจท์ แอคซอบเบค

วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.1 และ 3.2 เพียงแต่เพิ่มปริมาณ คาร์โอดินและแอคติเวท แอททาพัลโจท์ เป็นตัวอย่างละ 4 กรัม

คุณสมบัติของอิเล็กโทรไลต์ ว่าสามารถเพิ่มปริมาณนีโอมัยซินได้มากน้อยแค่ไหน โดยเปรียบเทียบปริมาณ นีโอมัยซิน จากนีโอมัยซิน-คาร์โอดิน แอคซอบเบค และนีโอมัยซิน-แอคติเวท แอททาพัลโจท์ ในเวลา 24 ชั่วโมง จากข้อ 4.2