#32819

รายงานการวิจัย

การวิเคราะห์หาปริมาณไดโคลฟีแนคโซเดียมจากยาเม็ดด้วยวิธีทางสเปคโตรโฟโตเมตรี

Spectrophotometric Determination of Diclofenac Sodium from Tablets

ยกเลิก
สืบ
เลขหมู่ RS 201.T2 A64 2534 ก.1
เลขทะเบียน 017389
16 ก.ย. 2535

นางสาว วิมล ตันติไชยากุล	หัวหน้าโครงการวิจัย (อาจารย์)
นาย นฤบดี ผดุงสมบัติ	ผู้ร่วมโครงการวิจัย (อาจารย์)
นาย สุรฉัตร ง้อสุรเชษฐ์	ผู้ร่วมโครงการวิจัย (นักศึกษา)
นาย อนันต์ ชัยกิจวัฒนะ	ผู้ร่วมโครงการวิจัย (นักศึกษา)

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
ประเภทโครงการนักศึกษา
ปี 2534

บทคัดย่อ

แสดงวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไดโคลฟีแนคโซเดียมจากยาเม็ด ด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตเมตรี โดยวิธีสกัดก่อนการวัดซึ่งเคยมีรายงานมาก่อน วิธี difference spectrophotometry วิธี standard addition และวิธีการวัดโดยตรง มีการปรับปรุงวิธีสกัดเพื่อให้มีค่า recovery สูงขึ้น วิธี difference spectrophotometry เป็นการวัดความแตกต่างการดูดกลืนแสง ระหว่างสารละลายของสารในสารละลาย 0.1 M NaOH และในสารละลาย $HCl:H_2O$ = 1:1 ในความเข้มข้นที่เท่ากัน ในการวิเคราะห์ยา 3 บริษัท วิธี difference spectrophotometry และวิธีการสกัดให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน แต่วิธี standard addition และวิธีวัดโดยตรง ให้ผลที่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ABSTRACT

The methods for determination of diclofenac sodium from tablets with spectrophotometry via reported extraction, difference spectrophotometry, standard addition and direct calibration have been described. The extraction method was modified to increase recovery value. In difference spectrophotometry, the difference absorption between equimolar solutions of compound in 0.1 M NaOH and that in $HCl:H_2O$ = 1:1 was measured. From the analysis of 3 brands, difference spectrophotometry and extraction gave no significantly different results but standard addition and direct calibration showed significantly different results from extraction at the 0.05 level.

สารบัญ

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		I
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)		II
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)		III
สารบัญเรื่อง		IV
สารบัญรูป		VI
สารบัญแผนภูมิ		VII
บทที่ 1	บทนำ	1
	1. ความสำคัญและความเป็นมา	1
	2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
บทที่ 2	การพัฒนาวิธีวิเคราะห์	3
	1. คุณสมบัติของไดโคลฟีแนค	3
	2. การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์	4
	3. การสกัด	4
	4. การทดลองวิเคราะห์โดยวิธี difference spectrophotometry	7
	4.1 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้วิธี difference spectrophotometry ในการวิเคราะห์	7
	4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่า $\triangle A$	10
	5. การวิเคราะห์โดยวิธี standard addition	10
	6. ปัญหาในการวิเคราะห์ไดโคลฟีแนคโซเดียม	11
	6.1 การวิเคราะห์เม็ดยาโดยการสกัด	11
	6.2 การวิเคราะห์โดย difference spectrophotometry	11
	7. สรุป	12
บทที่ 3	การทดลอง	14
	1. เครื่องมือที่ใช้	14
	2. สารเคมีที่ใช้	14
	3. การเตรียมสารละลาย 0.1 M NaOH	14

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 3	4. การเตรียมสารละลาย dilute HCl.....	14
	5. การเตรียมสารละลาย $HCl:H_2O$ = 1:1.....	14
	6. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 2.5 mg/mL.	14
	7. การเตรียมสารละลายสารตัวอย่าง ความเข้มข้นประมาณ 2.5 mg/mL.....	15
	8. การวิเคราะห์โดยการสกัด.....	15
	9. การวิเคราะห์โดย difference spectrophotometry..	15
	10.การวิเคราะห์โดย standard addition.....	16
	11.ข้อมูลการทดลองและการคำนวณหาปริมาณไดโคลฟีแนค-โซเดียมในยาเม็ด.....	17
บทที่ 4	ผลการทดลองและสรุป.....	26
	1. ผลการวิเคราะห์ % label amount.....	26
	2. การหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณยาที่วิเคราะห์ได้โดยวิธีต่างๆ.....	28
	3. สรุป.....	28
เอกสารอ้างอิง.....		30

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 X-ray analysis โครงสร้างของไดโคลฟีแนค..... 3

รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและ absorbance ที่ความยาวคลื่น 266 nm..... 4

รูปที่ 3 UV spectrum ของไดโคลฟีแนคใน A: สารละลายกรดเกลือ-เจือจาง และ B: ในสารละลาย 0.1 M NaOH..... 8

รูปที่ 4 UV spectrum ของไดโคลฟีแนคใน A: สารละลาย HCl:H_2O = 1:1 และ B: ในสารละลาย 0.1 M NaOH..... 9

รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร และ $\triangle A$ ที่ความยาวคลื่น 266 nm..... 10

รูปที่ 6 ผลการพลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมและค่า absorbance ที่วัดได้ ของยาบริษัทที่ 1..... 22

รูปที่ 7 ผลการพลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมและค่า absorbance ที่วัดได้ ของยาบริษัทที่ 2..... 23

รูปที่ 8 ผลการพลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมและค่า absorbance ที่วัดได้ ของยาบริษัทที่ 3..... 23

สารบัญแผนภูมิ

		หน้า
แผนภูมิที่ 1	การสกัดไดโคลฟีแนค.....	5
แผนภูมิที่ 2	การปรับปรุงการสกัดไดโคลฟีแนค.....	13

บทที่ 1

บทนำ

1.ความสำคัญและความเป็นมา

ไดโคลฟีแนคโซเดียม (Diclofenac sodium) เป็นยาต้านอาการอักเสบที่ไม่ใช่-สเตอรอยด์ (non-steroidal antiinflammatory agent/NSAID) ที่นิยมใช้กันมากทั่วโลก[1] เพื่อรักษาอาการปวดข้อ ข้ออักเสบ เช่นข้อเสื่อม ปวดข้อรูมาตอยด์และอาการอักเสบอื่นๆ[2] ยาให้ประสิทธิภาพในการรักษาสูง และทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์และการดื้อของยาต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับยาต้านอักเสบที่ไม่ใช่สเตอรอยด์อื่นๆ กลไกการออกฤทธิ์ของยาจะเกี่ยวข้องกับกลไกการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ทำให้เกิดการลดของ prostaglandin และ thromboxane

ยาเม็ดไดโคลฟีแนคโซเดียมจะเตรียมในรูปยาเม็ดเคลือบฟิลม์ (enteric film-coated tablet) ในขนาดของยา 25 และ 50 มิลลิกรัม และมีชนิดเคลือบฟิลม์ที่มีการปลดปล่อยตัวยาอย่างช้าๆ นอกจากจะเตรียมในรูปเกลือโซเดียม ยังมีการพัฒนายาในรูปเกลือชนิดอื่น เช่น เกลือโปแตสเซียม และ diethylammonium สำหรับเตรียมเป็นยาทาทางผิวหนังด้วย

มีการเริ่มใช้ไดโคลฟีแนคโซเดียมที่ประเทศญี่ปุ่นเป็นประเทศแรกตั้งแต่ ค.ศ. 1974 ยานี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกาให้ใช้ได้เมื่อ ค.ศ. 1988 แต่ยายังไม่ได้รับการจัดเข้าในเภสัชตำรับของอเมริกา (The United States Pharmacopoeia และ The National Formulary) และเภสัชตำรับของอังกฤษ (British Pharmacopoeia) หรือเภสัชตำรับของไทย (Thai Pharmacopoeia) จึงไม่มีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ยานี้ในเภสัชตำรับดังกล่าว มีรายงานการวิเคราะห์ไดโคลฟีแนกในยาเตรียม โดยใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง เช่น high performance liquid chromatograpy[3-4] หรือ gas liquid chromatography[5] ซึ่งเป็นเครื่องมือที่อาจหาไม่ได้ในโรงงานยาหลายแห่งในประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์โดยการทำปฏิกิริยาให้เกิดสี[6-7] ซึ่งการวิเคราะห์ต้องรอเวลาในการเกิดสีและการวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายจะกระทำในช่วงระยะเวลาสั้นๆช่วงหนึ่ง เนื่องจากสีที่เกิดจะมีการจางไป อันเป็นข้อเสียประการหนึ่งของการวิเคราะห์โดยวิธีนี้

เนื่องจากไดโคลฟีแนคมีสูตรโครงสร้างที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงอุลตราไวโอเลต (ultraviolet) ได้ จึงอาจสามารถวิเคราะห์ยานี้ได้โดยตรงจากการวัดการดูดกลืนแสงในช่วงอุลตราไวโอเลต ในกรณีที่สารอื่นๆในยาเม็ดไม่รบกวนต่อการดูดกลืนแสงของยา ถ้ามีการรบกวนการวิเคราะห์เนื่องจากสารอื่นอาจทำการแก้ไขได้โดยใช้เทคนิคของ difference spectrophotometry หรือ standard addition[8-9] ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ทำได้รวดเร็ว

และไม่จำเป็นต้องแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากสิ่งรบกวนอื่นๆโดยการสกัดหรือการแยกด้วยเครื่องมือราคาแพงตัวกล่าวข้างต้น

2.วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาการวิเคราะห์ไดโคลฟีแนคโซเดียมในยาเม็ดโดยวิธี difference spectrophotometry และ standard addition เพื่อให้ได้วิธีการวิเคราะห์ที่ทำได้อย่างรวดเร็วและถูกต้อง

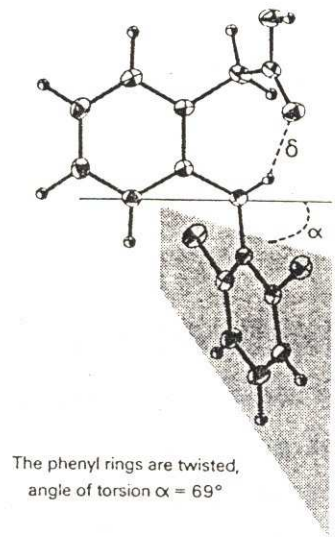
บทที่ 2

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์

1.คุณสมบัติของไดโคลฟีแนค

ไดโคลฟีแนคโซเดียม หรือ Sodium-[o-[(2,6-dichlorophenul)-amino]-phenyl]-acetate หรือ 2-[2,6-Dichlorophenyl amino] benzene acetic acid monosodium salt จัดเป็น NSIADs ในกลุ่ม phenylacetic acid สูตรโมเลกุลคือ $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ น้ำหนักโมเลกุลเป็น 318.13 และมีสูตรโครงสร้างดังนี้

ไดโคลฟีแนคมีค่า pK_a เท่ากับ 4 และค่า partition coefficient เท่ากับ 13.4[10] จาก x-ray analysis โครงสร้างโมเลกุล แสดงให้เห็นว่ามีการบิดของ aromatic ring ทั้งสอง และมีการเกิด hydrogen bond ระหว่าง carboxyl oxygen และ amino hydrogen ดังแสดงในรูปที่ 1 นี้

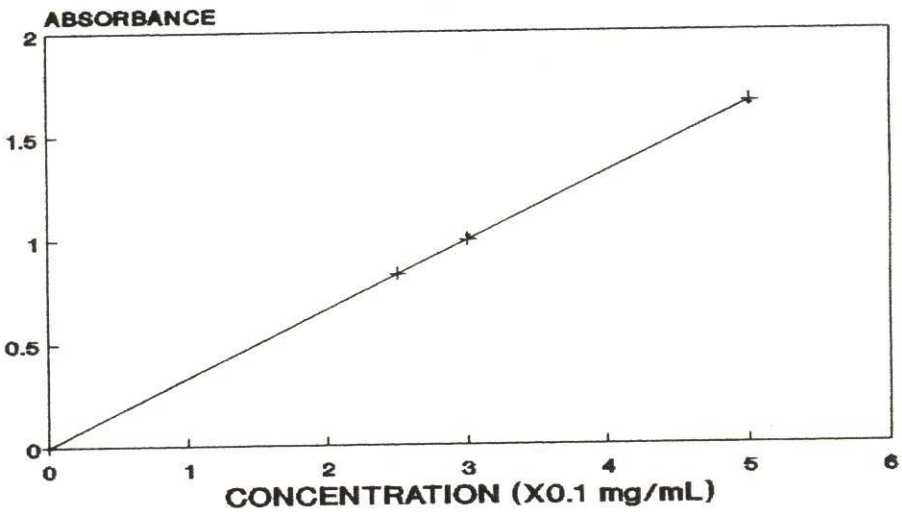


รูปที่ 1 X-ray analysis โครงสร้างของไดโคลฟีแนค

2. การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

เตรียมสารละลายมาตรฐานของไดโคลฟีแนคโซเดียมใน 0.1 M NaOH ในความเข้มข้นต่างๆกัน ความเข้มข้นที่เตรียมในการทดลองจะเป็น $2.5x10^{-2}$ - $5x10^{-2}$ mg/mL พลอตค่า absorbance ที่วัดได้กับค่าความเข้มข้นของสารละลาย

ผลจากการทดลองความเข้มข้นในช่วงที่เตรียมนี้ ให้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารและค่า absorbance ที่วัดได้เป็นเส้นตรง ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและ absorbance ที่ความยาวคลื่น 266 nm

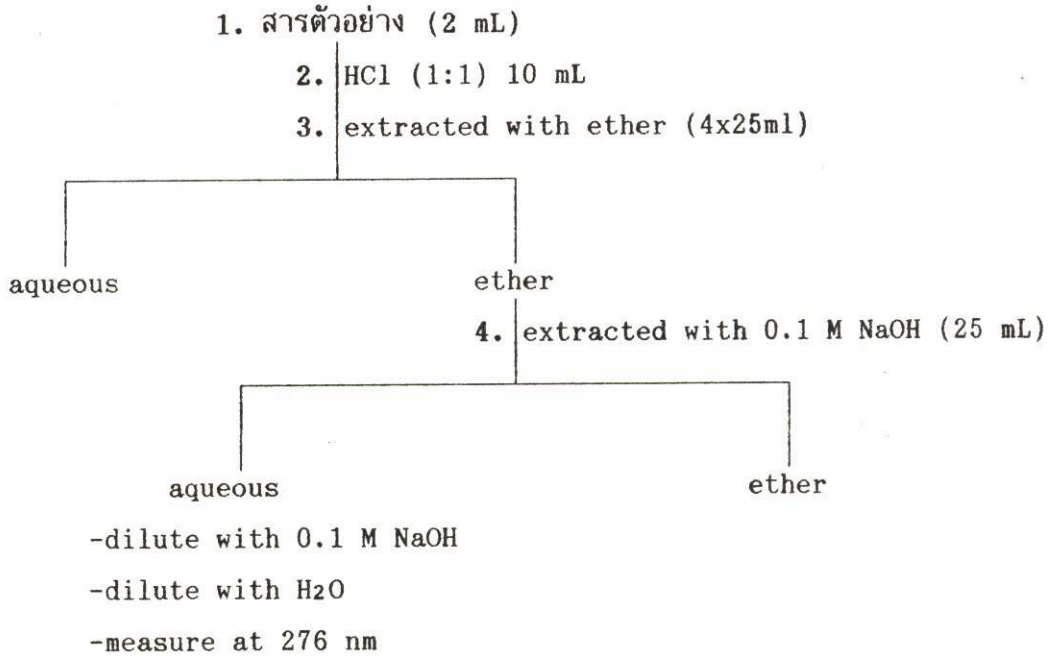
3. การสกัดสาร

การสกัดสารจะทำให้สารที่ได้มีความบริสุทธิ์ปราศจากสารปนเปื้อนอื่นๆ การวิเคราะห์โดยผ่านขั้นตอนการสกัดจึงให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องสูง ข้อเสียของการสกัดสารคือการเสียเวลาในการวิเคราะห์ และอาจเกิดการสูญเสียสารได้ในขั้นตอนของการสกัด อย่างไรก็ตามปัญหาการสูญเสียนี้อาจแก้ไขได้โดยการทำการสกัดทั้งสารมาตรฐานและสารตัวอย่างในลักษณะเดียวกัน และเพื่อให้มีความถูกต้องมากขึ้น ควรใช้เทคนิคที่ทำให้เกิดการสูญเสียสารระหว่างการสกัดต่ำที่สุด

เนื่องจากการวิเคราะห์ไดโคลฟีแนกโซเดียม ยังไม่มีระบุไว้ในเภสัชตำรับ ผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้วิธีการสกัดสารออกจากสารตัวอย่าง (ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง) เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์อื่นๆ ซึ่งใช้หลักการการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตในลักษณะเดียวกัน

การหาวิธีที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสาร

มีรายงานการสกัดไดโคลฟีแนค[12] ตามแผนภูมิที่ 1



แผนภูมิที่ 1 การสกัดไดโคลฟีแนค

จากการทดลองสกัดสารมาตรฐาน 4 ตัวอย่างตามแผนภูมิที่ 1 แต่การปรับความเข้มข้นสุดท้ายก่อนการวัดการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลต จะใช้ 0.1 M NaOH ผลการทดลองได้ค่า %recovery ดังนี้

ตัวอย่าง	% recovery
1	85.14
2	88.34
3	85.86
4	88.34

mean = 86.92

S.D. = 1.44

% recovery ที่ได้มีค่าค่อนข้างต่ำ จึงได้มีการปรับปรุงขั้นตอนการสกัด ดังนี้

1. เพิ่มปริมาณ 0.1 M NaOH ในขั้นตอนที่ 4 ของแผนภูมิที่ 1 จาก 25 mL เป็น 100 mL โดยแบ่งสกัด 4 ครั้ง (4x25 mL) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารออกจากชั้น ether % recovery ที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น

2. เปลี่ยนสารละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดจาก ether เป็น CH_2CL_2 และ ethyl acetate ผลการทดลองที่ได้ไม่ดีกว่าการใช้ ether เป็นตัวทำละลายในการสกัด

3. เนื่องจากมีการใช้กรดที่ความเข้มข้นค่อนข้างสูงมากในขั้นตอนที่ 2 ของแผนภูมิ 1 อาจเกิดอันตรายได้ในระหว่างทำการทดลอง จึงได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการที่จะลดความเข้มข้นของกรดลง ผลการทดลองได้ค่า % recovery ดังนี้

	% recovery	n
HCl:H2O = 1:1	103.48	3
dilute HCl	104.48	3

ค่า % recovery ที่ได้ไม่มีความแตกต่างเมื่อมีการเปลี่ยนความเข้มข้นของกรด

4. การทดลองวิเคราะห์โดยวิธี difference spectrophotometry

4.1 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้วิธี difference spectrophotometry ในการวิเคราะห์

มีรายงาน[11]แสดงค่าความยาวคลื่นที่ไดโคลฟีแนค มีการดูดกลืนสูงสุด (maximum absorption) และค่า absorptivity ดังนี้

ใน aqueaus acid 273 nm (A^{1}_{1} = 309)

ใน aqueaus alkali 275 nm (A^{1}_{1} = 351)

ค่าความแตกต่างในความยาวคลื่นของไดโคลฟีแนคในสารละลายทั้งสองนี้จะประมาณ 2 nm ซึ่งไม่มากพอที่จะใช้ในการทดลองโดยวิธี difference spectrophotometry

จากการทดลองหาค่าความยาวคลื่นที่ไดโคลฟีแนคโซเดียมมีการดูดกลืนแสงสูงสุดได้ผลดังนี้ (แสดงในรูปที่ 3)

ใน 0.1 M NaOH 266 nm (A^{1}_{1} = 330)

ใน กรดเกลือเจือจาง 262 nm

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเกลือจากความเข้มข้นเจือจาง เป็นความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยใช้อัตราส่วนกรดเกลือและน้ำเป็นหนึ่งต่อหนึ่ง จะสามารถเปลี่ยนค่าความยาวคลื่นที่สารมีการดูดกลืนสูงสุดเป็น 234 nm (A^{1}_{1} = 256) ดังแสดงในรูปที่ 4

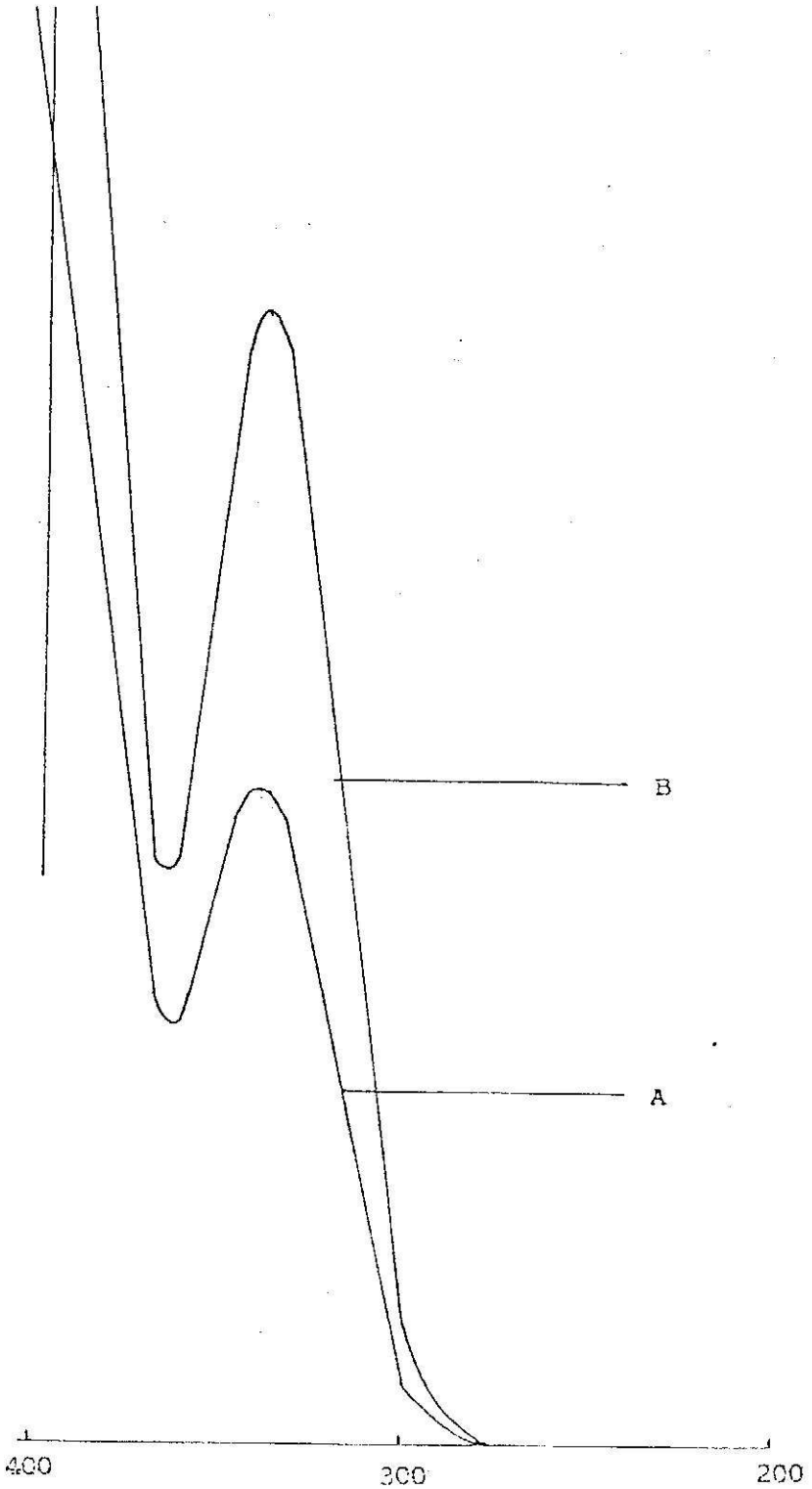
การเพิ่มความเป็นกรดของสารละลาย อาจทำให้ลดความแรงของ hydrogen bond ภายในโมเลกุลของสาร (แสดงในรูปที่ 1) และส่งผลให้ electron ที่ nitrogen ที่สามารถ interact กับ aromatic π system ลดลง ค่าความยาวคลื่นที่สารมีการดูดกลืนแสงสูงสุดจึงมีการเลื่อนไปยังความยาวคลื่นที่สั้นลง

จากผลการทดลองซึ่งได้ความแตกต่างของค่าความยาวคลื่นประมาณ 32 nm ทำให้สามารถประยุกต์ใช้ difference spectrophotometry สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารได้ โดยถ้ามีสารอื่น (X) ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงปนอยู่ในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ และสาร X มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากันทั้งในสารละลายที่เป็นด่างและสารละลายกรด และสมมติเป็น A_x และค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในด่างเป็น A_{alk} และกรดเป็น A_{acid} จะได้

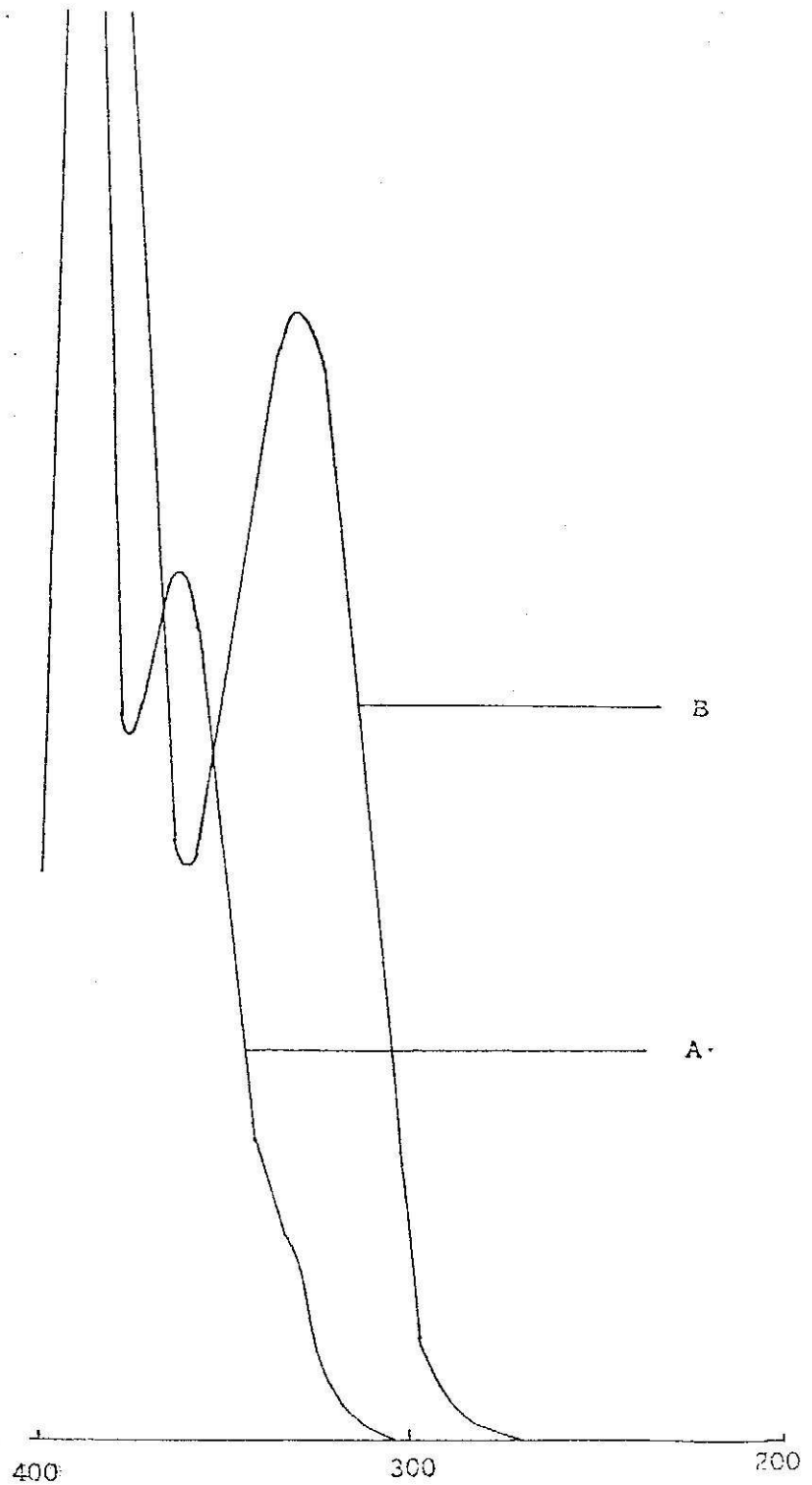
$$\triangle A = (A_{alk} + A_x) - (A_{acid} + A_x)$$

$$\therefore \triangle A = A_{alk} - A_{acid}$$

จากการวัด $\triangle A$ ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม หรือที่ความยาวคลื่นที่สารมีการดูดกลืนแสงสูงสุดในด่าง (266 nm) จะทำให้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารได้ โดยตัดการรบกวนเนื่องมาจากการดูดกลืนแสงจากสารปนเปื้อนอื่นๆในตัวอย่างได้



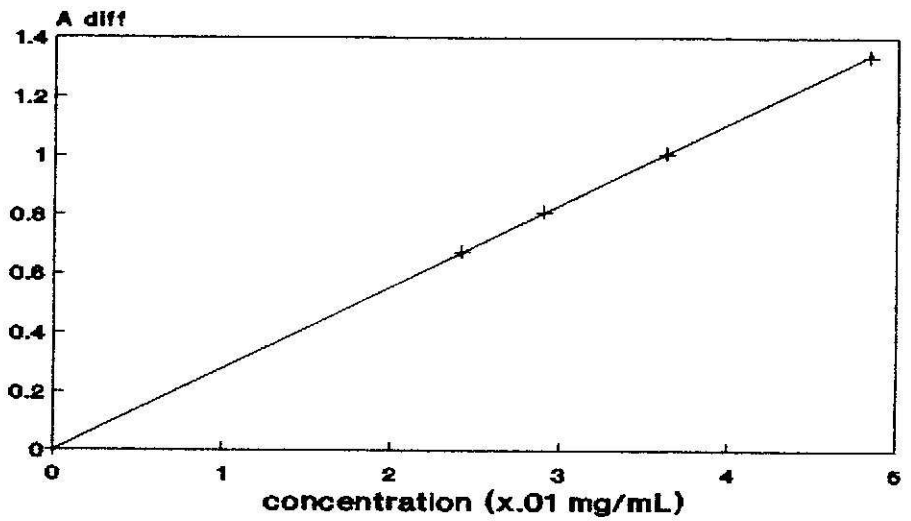
รูปที่ 3 UV spectrum ของไดโคลฟีแนคใน A: สารละลายกรดเกลือเจือจาง และ B: ในสารละลาย 0.1 M NaOH



รูปที่ 4 UV spectrum ของไดโคลฟีแนคใน A: สารละลาย HCl:H_2O = 1:1 และ B: ใน สารละลาย 0.1 M NaOH

4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่า $\triangle A$

เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ (2.4×10^{-2} - 4.8×10^{-2} mg/mL) ในสารละลาย 0.1 M NaOH และในสารละลาย $HCl:H_2O$ = 1:1 วัดค่าความแตกต่างของการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลต โดยใช้ Double Beam UV-visible spectrophotometer ในการทดลองจะใส่สารละลายต่างในช่องสำหรับใส่สาร และสารละลายกรดที่ความเข้มข้นที่เท่ากันในช่อง blank ค่า absorbance ที่วัดได้คือค่า $\triangle A$ ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่า $\triangle A$ จะเป็นเส้นตรง ดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารและ $\triangle A$ ที่ความยาวคลื่น 266 nm

5. การวิเคราะห์โดยวิธี Standard Addition

การวิเคราะห์โดยวิธี standard addition เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความสำคัญสำหรับการวิเคราะห์ทาง spectrophotometry[9] เป็นวิธีที่ใช้ในกรณีที่มีสารปนเปื้อนซึ่งจะทำให้เกิดความแตกต่างของการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารมาตรฐานที่บริสุทธิ์ และสารละลายของสารที่วิเคราะห์ในสารตัวอย่าง อันทำให้เกิดความผิดพลาดได้ ถ้าทำการวิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบโดยตรง (direct calibration) วิธี standard addition นี้จะทำให้การวิเคราะห์ถูกต้องมากขึ้น เนื่องจากสารที่ปนเปื้อนจะมีผลต่อการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างในลักษณะเดียวกัน

เทคนิคหนึ่งของการทำ standard addition ทำได้โดยการเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นที่เท่ากัน และเติมสารมาตรฐานในความเข้มข้นประมาณ 0, 0.5x, x

และ 2x เมื่อ x เป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ข้อมูลการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารละลายจะนำมาพลอตเป็นกราฟ โดยให้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมอยู่ในแนวนอน และค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในแนวตั้ง extrapolation เส้นกราฟไปตัดแนวนอน จะได้ค่าความเข้มข้นของสารในสารตัวอย่าง

6. ปัญหาในการวิเคราะห์ไดโคลฟีแนคโซเดียม

6.1 การวิเคราะห์เม็ดยาโดยการสกัด

ขั้นตอนการวิเคราะห์จะประกอบด้วยการเตรียม stock solution ของสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำ กรอง และ pipet สารละลายที่กรองนี้เพื่อทำการสกัด

ในขั้นตอนการสกัด เมื่อเติมสารละลายกรดเกลือ สารจะมีการจับตัวเป็นก้อนเหนียว ตัวยาที่ต้องการวิเคราะห์อาจถูกจับอยู่ในก้อนตะกอน และทำให้ปริมาณที่วิเคราะห์ได้อาจต่ำกว่าความเป็นจริง

การเกิดตะกอนนี้ อาจมีสาเหตุจากฟิลม์ที่เคลือบผิวเม็ดยา ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับสารละลายกรด ดังนั้นเมื่อชั่งหาน้ำหนักเฉลี่ยของเม็ดยาแล้ว ก่อนที่จะนำเม็ดยามาบด ได้แก้ไขปัญหาในการเกิดตะกอนดังนี้

1. ใช้ methanol เช็ดฟิลม์ที่เคลือบเม็ดยาออก ทิ้งให้เม็ดยาแห้ง แล้วจึงนำมาบด และทำการทดลองต่อ
   วิธีนี้ให้ผลไม่สามารถแก้ปัญหาที่เกิดได้ดีนัก เนื่องจากยังเกิดตะกอนอยู่
2. ขูดผิวฟิลม์ที่เคลือบออก และนำเม็ดยามาบด และทำการทดลองต่อ
   วิธีนี้สามารถขจัดปัญหาได้

6.2 การวิเคราะห์โดย difference spectrophotometry

ในการวิเคราะห์ได้เตรียมสารละลายไดโคลฟีแนคโซเดียมที่มีความเข้มข้นประมาณ 2.5 mg/mL และทำการทดลองดังนี้

1. นำสารละลาย 2 mL ปรับปริมาตรด้วย 0.1 M NaOH จนครบ 200 mL
2. นำสารละลาย 3 mL ปรับปริมาตรด้วย 0.1 M NaOH จนครบ 200 mL
3. นำสารละลาย 2 mL ปรับปริมาตรด้วย $HCl:H_2O$ = 1:1 จนครบ 200 mL
4. นำสารละลาย 3 mL ปรับปริมาตรด้วย $HCl:H_2O$ = 1:1 จนครบ 200 mL

การทดลองในขั้นตอนที่ 3 และ 4 มีปัญหาเกิดขึ้นเนื่องจากสารละลายขุ่น ซึ่งแสดงว่าตัวยาไม่สามารถละลายในสารละลาย $HCl:H_2O$ = 1:1 ในปริมาตร 200 mL การแก้ความขุ่นทำโดยเติม methanol เพื่อช่วยละลาย ก่อนที่จะเติม $HCl:H_2O$ = 1:1 จากการทดลองเติม

methanol ในปริมาณ 3, 5, 7 และ 10 mL พบว่าปริมาณ methanol ที่เหมาะสมคือ 10 mL จึงแก้ไขวิธีการทดลองใหม่ในขั้นตอนที่ 1-4 เป็นดังนี้

1. นำสารละลาย 2 mL เติม methanol 10 mL และปรับปริมาตรด้วย 0.1 M NaOH จนครบ 200 mL

2. นำสารละลาย 3 mL เติม methanol 10 mL และปรับปริมาตรด้วย 0.1 M NaOH จนครบ 200 mL

3. นำสารละลาย 2 mL เติม methanol 10 mL และปรับปริมาตรด้วย $HCl:H_2O$ = 1:1 จนครบ 200 mL

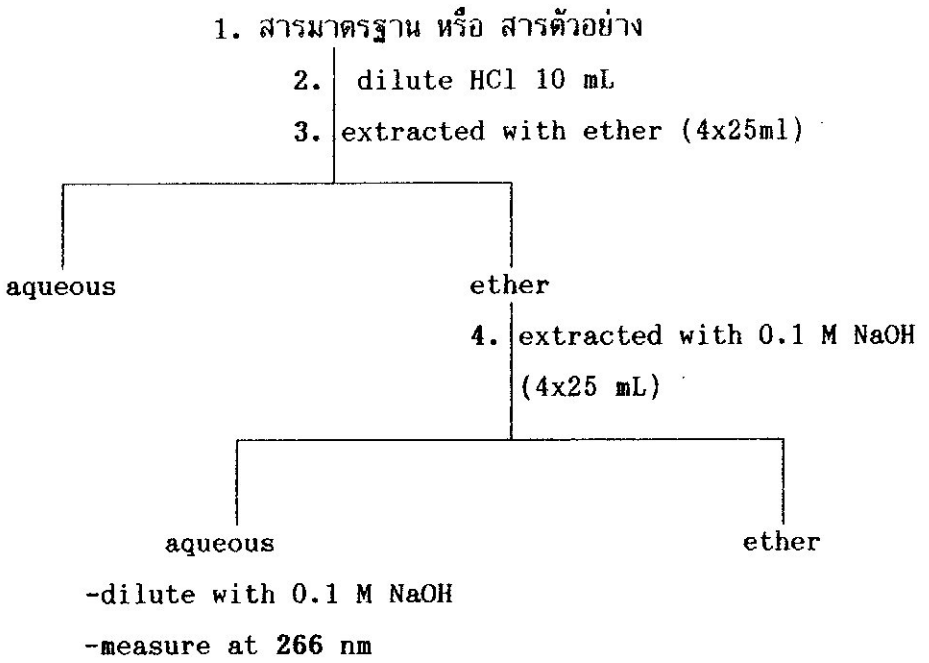
4. นำสารละลาย 3 mL เติม methanol 10 mL และปรับปริมาตรด้วย $HCl:H_2O$ = 1:1 จนครบ 200 mL

การเติม methanol 10 mL นี้จะเติมทั้งในสารละลายของสารตัวอย่างและสารละลายสารมาตรฐาน

7. สรุป

1. ในการวิเคราะห์ยาเม็ด จะชั่งน้ำหนักยา 20 เม็ด และหาน้ำหนักเฉลี่ยของยา 1 เม็ด ขูดผิวฟิลม์ที่เคลือบยาออกก่อน บดเม็ดยาและชั่งผงยาเพื่อเตรียมเป็น stock solution กรองผงยาผ่านกระดาษกรอง และนำสารละลายใสไปใช้ในการวิเคราะห์วิธีต่างๆ รวมถึงการสกัดด้วย ซึ่งขั้นตอนการสกัดทั้งสารมาตรฐานและสารตัวอย่างจะเป็นตาม**แผนภูมิที่** 2

2. การวิเคราะห์โดย difference spectrophotometry เมื่อ pipet stock solution ของสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่าง เพื่อปรับให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ จะเติม methanol (เพื่อช่วยในการละลาย) ทั้งในสารละลายที่ปรับด้วย 0.1 M NaOH และสารละลายที่ปรับด้วย $HCl:H_2O$ = 1:1



แผนภูมิที่ 2 การปรับปรุงการสกัดไดโคลฟีแนคโซเดียม

บทที่ 3

การทดลอง

1. เครื่องมือที่ใช้

Double Beam UV-Visible Spectrophotometer
Kontron^{R} UVIKON 810

2. สารเคมีที่ใช้

Diclofenac Sodium
Diethyl ether
Methanol
Sodium hydroxide
Hydrochloric acid
Water
ยาเม็ด diclofenac sodium จากบริษัทต่างๆ

3. การเตรียมสารละลาย 0.1 M NaOH

ชั่ง NaOH 12 g เติมน้ำ 3000 mL ละลายและผสมให้เข้ากัน

4. การเตรียมสารละลาย dilute HCl

ตวงกรดเกลือเข้มข้น 274 mL เติมลงในน้ำ 726 mL ผสมให้เข้ากัน

5. การเตรียมสารละลาย HCl:H_2O = 1:1

ตวงกรดเกลือเข้มข้น 500 mL เติมลงในน้ำ 500 mL ผสมให้เข้ากัน

6. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 2.5 mg/mL (A)

ชั่งสารมาตรฐานไดโคลฟีแนคโซเดียม อย่างถูกต้องแม่นยำ 250 mg ละลายน้ำ และปรับปริมาตรด้วยน้ำจนครบ 100 mL

7. การเตรียมสารละลายสารตัวอย่าง ความเข้มข้นประมาณ 2.5 mg/mL (B)

ชั่งยาเม็ดไดโคลฟีแนคโซเดียม 20 เม็ด หาน้ำหนักเฉลี่ยของเม็ดยา ขูดผิวฟิลม์ออกจากเม็ดยา นำเม็ดยามาบดและชั่งผงยาอย่างถูกต้องให้มีเนื้อยา 500 mg ถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 200 mL ละลายด้วยน้ำ sonicate ประมาณ 10 นาที เพื่อช่วยในการละลายตัวยา ปรับปริมาตรให้ครบ 200 mL จะได้ปริมาณยาจากเม็ดยาในความเข้มข้นประมาณ 2.5 mg/mL นำสารละลายนี้กรองผ่านกระดาษกรอง ทิ้งสารละลายประมาณ 30 mL แรกของส่วนที่กรองได้ และรองรับสารละลายใสที่ได้เพื่อใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธีต่างๆ ต่อไป

8. การวิเคราะห์โดยการสกัด

8.1 นำสารละลายมาตรฐาน A ซึ่งมีความเข้มข้น 2.5 mg/mL มา 3 mL และทำการสกัดตามแผนภูมิที่ 2 ปรับปริมาตรขั้นสุดท้ายตามแผนภูมิที่ 2 ให้ครบ 200 mL นำสารละลายไปวัดการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 266 nm

สารละลายมาตรฐานที่ได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 3.75×10^{-2} mg/mL

8.2 นำสารละลายตัวอย่าง B ซึ่งมีความเข้มข้นประมาณ 2.5 mg/mL มา 2 mL (C) และ 3 mL (D) และทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 8.1

สารละลาย C จะมีค่า dilution factor = 200x200/2

สารละลาย D จะมีค่า dilution factor = 200x200/3

8.3 คำนวณหาปริมาณยาที่มีอยู่ในยาเม็ด โดยการเปรียบเทียบค่า absorbance ที่วัดได้ของสารละลายตัวอย่าง กับค่าที่ได้จากสารละลายมาตรฐานซึ่งทราบความเข้มข้น

9. การวิเคราะห์โดย difference spectrophotometry

9.1 นำสารละลายมาตรฐาน A ซึ่งใช้ในข้อ 8.1 มา 3 mL ใส่ volumetric flask ขนาด 200 mL เติม methanol 10 mL และปรับปริมาตรด้วย 0.1 M NaOH จนครบ 200 mL

สารละลายมาตรฐานจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 3.75×10^{-2} mg/mL

9.2 นำสารละลายมาตรฐาน A ซึ่งใช้ในข้อ 8.1 มา 3 mL ใส่ volumetric

flask ขนาด 200 mL เติม methanol 10 mL และปรับปริมาตรด้วย $HCl:H_2O$ = 1:1 จนครบ 200 mL

สารละลายมาตรฐานจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 3.75×10^{-2} mg/mL

9.3 นำสารละลายตัวอย่าง B ซึ่งใช้ในข้อ 8.2 มา 2 mL (E) และ 3 mL (F) และทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 9.1 และ 9.2

สารละลาย E จะมีค่า dilution factor = 200x200/2

สารละลาย F จะมีค่า dilution factor = 200x200/3

9.4 คำนวณหาปริมาณยาที่มีอยู่ในยาเม็ด โดยการเปรียบเทียบค่า absorbance ($\triangle A$) ที่วัดได้ของสารละลายตัวอย่างและค่าที่ได้จากสารละลายมาตรฐาน ซึ่งทราบความเข้มข้น

10. การวิเคราะห์โดยวิธี standard addition

10.1 การทดลองจะเป็นดังนี้

	volumetric flask		
	1	2	3
สารละลายสารตัวอย่าง B (ซึ่งใช้ในข้อ 8.2)			
ความเข้มข้นประมาณ 2.5 mg/mL	1 mL	1 mL	1 mL
สารละลายมาตรฐาน A (ซึ่งใช้ในข้อ 8.1)			
ความเข้มข้น 2.5 mg/mL	0 mL	1 mL	2 mL
ปรับปริมาตรด้วย 0.1 M NaOH จนครบ	200 mL	200 mL	200 mL
ความเข้มข้นสุดท้าย ($x10^{-2}$ mg/mL)			
ของสารละลายมาตรฐาน	0	1.25	2.5

10.2 การคำนวณหาปริมาณไดโคลฟีแนคโซเดียมในสารตัวอย่าง ทำโดยการพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป และค่า absorbance ที่วัดได้ extrapolation เส้นกราฟมาตัดแกนนอนจะได้ค่าความเข้มข้นของไดโคลฟีแนคโซเดียมในสารละลายและคูณด้วย dilution factor จะได้ปริมาณไดโคลฟีแนคในสารตัวอย่าง

11. ข้อมูลการทดลองและการคำนวณหาปริมาณไดโคลฟีแนคโซเดียมในเม็ดยา

11.1 ข้อมูลการชั่งน้ำหนัก

ไดโคลฟีแนคโซเดียมจากบริษัทที่ 1, 2, 3 ระบุว่ามีตัวยา 25 mg/เม็ด

	ยาบริษัท		
	1	2	3
น้ำหนักเม็ดยา 20 เม็ด (g)	3.0700	2.8811	2.8746
น้ำหนักเฉลี่ย 1 เม็ด (g)	0.1535	0.1441	0.1437
น้ำหนักผงยาที่ชั่ง (g) เพื่อเตรียมสารละลาย B	3.0700	2.8811	2.8746

11.2 การวิเคราะห์โดย การสกัด

ทำการทดลองโดยชั่งน้ำหนักผงยาตามข้อมูลในข้อ 11.1 เพื่อเตรียมสารละลาย B ตามข้อ 7 และทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนในข้อ 8

ค่า absorbance ที่วัดได้จากการวิเคราะห์ยาของบริษัทที่ 1 2 และ 3 เป็นดังนี้

			absorbance		
			บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารมาตรฐาน	ตัวอย่างที่ 1		1.242	1.257	1.287
	ตัวอย่างที่ 2		1.236	1.257	1.287
	ตัวอย่างที่ 3		1.242	1.257	1.286
	ตัวอย่างที่ 4		1.236	1.256	1.289
	เฉลี่ย	=	1.239	1.257	1.287
	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	=	0.003	0.000	0.001

		absorbance		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารตัวอย่าง (C)	ตัวอย่างที่ 1	0.756	0.726	0.953
	ตัวอย่างที่ 2	0.750	0.726	0.942
	ตัวอย่างที่ 3	0.760	0.726	0.958
	ตัวอย่างที่ 4	0.750	0.726	0.964
สารตัวอย่าง (D)	ตัวอย่างที่ 1	1.098	1.072	1.366
	ตัวอย่างที่ 2	1.124	1.072	1.375
	ตัวอย่างที่ 3	1.124	1.072	1.378
	ตัวอย่างที่ 4	1.140	1.072	1.394

การคำนวณปริมาณยาจากสารละลาย C ของบริษัทที่ 1:สารตัวอย่างที่ 1

absorbance 1.239 ได้จากสารละลายซึ่งมีความเข้มข้น 0.0375 mg/mL

∴ absorbance 0.756 จะได้จากสารละลายเข้มข้น $\frac{0.0375 \times 0.756}{1.239}$ mg/mL

∴ ผงยาที่ชั่ง 3.0700 g มียา $= \frac{0.0375 \times 0.756 \times 200 \times 200}{1.239 \quad 2}$ mg

ยา 1 เม็ดจะมีไดโคลฟีแนคโซเดียม $= \frac{0.0375 \times 0.756 \times 200 \times 200 \times 0.1535}{1.239 \quad 2 \quad 3.0700}$ mg

% label amount $= \frac{0.0375 \times 0.756 \times 200 \times 200 \times 0.1535 \times 100}{1.239 \quad 2 \quad 3.0700 \quad 25}$

$= 91.53$

คำนวณเช่นเดียวกันจะได้ % label amount ของสารตัวอย่าง C ตัวอื่นๆ

การคำนวณปริมาณยาจากสารละลาย D ของบริษัทที่ 1:สารตัวอย่างที่ 1

absorbance 1.239 ได้จากสารละลายซึ่งมีความเข้มข้น 0.0375 mg/mL

∴ absorbance 1.098 จะได้จากสารละลายเข้มข้น $\frac{0.0375 \times 1.098}{1.239}$ mg/mL

∴ ผงยาที่ชั่ง 3.0700 g มีตัวยา $= \frac{0.0375 \times 1.098 \times 200 \times 200}{1.239 \quad 3}$ mg

ยา 1 เม็ดจะมีไดโคลฟีแนคโซเดียม $= \frac{0.0375 \times 1.098 \times 200 \times 200 \times 0.1535}{1.239 \quad 3 \quad 3.0700}$ mg

% label amount $= \frac{0.0375 \times 1.098 \times 200 \times 200 \times 0.1535 \times 100}{1.239 \quad 3 \quad 3.0700 \quad 25}$

$= 88.62$

คำนวณเช่นเดียวกันจะได้ % label amount ของสารตัวอย่าง D ตัวอื่นๆ

11.3 การวิเคราะห์โดย difference spectrophotometry

ทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนในข้อ 9

ค่าความแตกต่างของ absorbance ($\triangle A$) ที่วัดได้จากการวิเคราะห์ยาของเป็นดังนี้

		$\triangle A$		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารมาตรฐาน	ตัวอย่างที่ 1	1.00	1.017	0.993
	ตัวอย่างที่ 2	1.00	1.017	0.999
	ตัวอย่างที่ 3	1.00	1.017	1.001
	ตัวอย่างที่ 4	1.00	1.017	1.007
	เฉลี่ย =	1.00	1.017	1.000
	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน =	0.00	0.000	0.005

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

		△A		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารตัวอย่าง (E)	ตัวอย่างที่ 1	0.616	0.584	0.732
	ตัวอย่างที่ 2	0.608	0.588	0.738
	ตัวอย่างที่ 3	0.604	0.594	0.744
	ตัวอย่างที่ 4	0.608	0.574	0.744
สารตัวอย่าง (F)	ตัวอย่างที่ 1	0.912	0.868	1.110
	ตัวอย่างที่ 2	0.912	0.873	1.114
	ตัวอย่างที่ 3	0.912	0.876	1.122
	ตัวอย่างที่ 4	0.892	0.881	1.122

การคำนวณปริมาณยาจากสารละลาย E ของบริษัทที่ 1:สารตัวอย่างที่ 1

absorbance 1.00 ได้จากสารละลายซึ่งมีความเข้มข้น 0.0375 mg/mL

∴ absorbance 0.616 จะได้จากสารละลายเข้มข้น $\frac{0.0375 \times 0.616}{1.00}$ mg/mL

∴ ผงยาที่ชั่ง 3.0700 g มีตัวยา $= \frac{0.0375 \times 0.616 \times 200 \times 200}{1.00 \quad 2}$ mg

ยา 1 เม็ดจะมีไดโคลฟีแนคโซเดียม $= \frac{0.0375 \times 0.616 \times 200 \times 200 \times 0.1535}{1.00 \quad 2 \quad 3.0700}$ mg

% label amount $= \frac{0.0375 \times 0.616 \times 200 \times 200 \times 0.1535 \times 100}{1.00 \quad 2 \quad 3.0700 \quad 25}$

$= 92.40$

คำนวณเช่นเดียวกันจะได้ % label amount ของสารตัวอย่าง E ตัวอื่นๆ

การคำนวณปริมาณยาจากสารละลาย F ของบริษัทที่ 1:สารตัวอย่างที่ 1

absorbance 1.00 ได้จากสารละลายซึ่งมีความเข้มข้น 0.0375 mg/mL

∴ absorbance 0.912 จะได้จากสารละลายเข้มข้น $\frac{0.0375 \times 0.912}{1.00}$ mg/mL

∴ ผงยาที่ชั่ง 3.0700 g มีตัวยา $= \frac{0.0375 \times 0.912 \times 200 \times 200}{1.00 \quad 3}$ mg

ยา 1 เม็ดจะมีไดโคลฟีแนคโซเดียม $= \frac{0.0375 \times 0.912 \times 200 \times 200 \times 0.1535}{1.00 \quad 3 \quad 3.0700}$ mg

% label amount $= \frac{0.0375 \times 0.912 \times 200 \times 200 \times 0.1535 \times 100}{1.00 \quad 3 \quad 3.0700 \quad 25}$

$= 91.20$

คำนวณเช่นเดียวกันจะได้ % label amount ของสารตัวอย่าง F ตัวอื่นๆ

11.4 การวิเคราะห์โดย standard addition

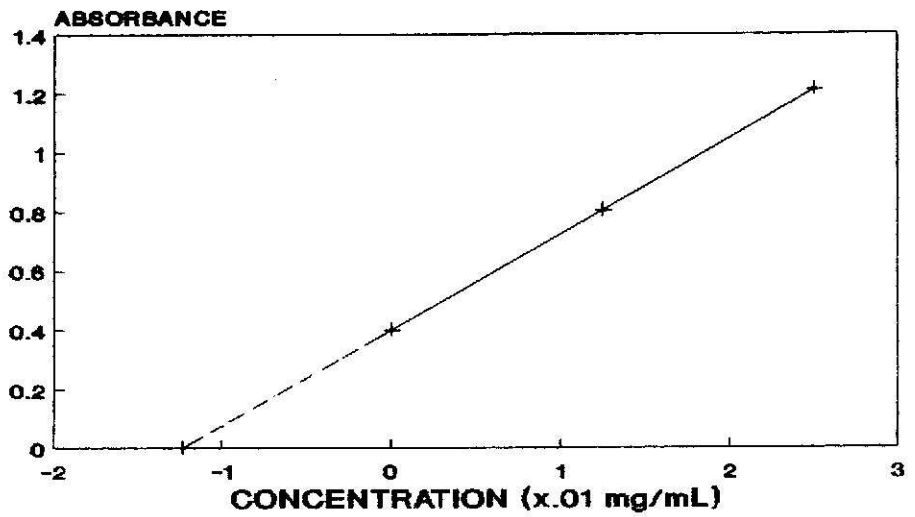
ทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนในข้อ 10

ค่า absorbance ที่วัดได้จากการวิเคราะห์ยาเป็นดังนี้

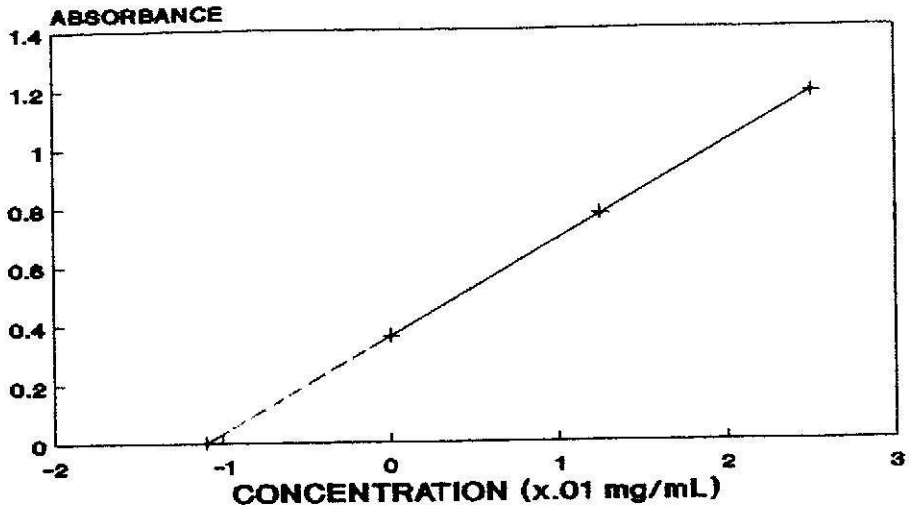
		absorbance		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
volumetric flask 1	ตัวอย่างที่ 1	0.400	0.360	0.472
	ตัวอย่างที่ 2	0.400	0.360	0.472
	ตัวอย่างที่ 3	0.400	0.360	0.472
	ตัวอย่างที่ 4	0.400	0.360	0.472

		absorbance		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
volumetric flask 2	ตัวอย่างที่ 1	0.804	0.762	0.888
	ตัวอย่างที่ 2	0.804	0.770	0.888
	ตัวอย่างที่ 3	0.804	0.770	0.888
	ตัวอย่างที่ 4	0.804	0.770	0.888
volumetric flask 3	ตัวอย่างที่ 1	1.210	1.180	1.297
	ตัวอย่างที่ 2	1.210	1.180	1.297
	ตัวอย่างที่ 3	1.210	1.180	1.297
	ตัวอย่างที่ 4	1.210	1.180	1.297

การพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (0, 0.0125, 0.025 mg/mL) กับค่า absorbance ที่วัดได้ของบริษัทที่ 1, 2 และ 3 ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 6, 7 และ 8 ตามลำดับ

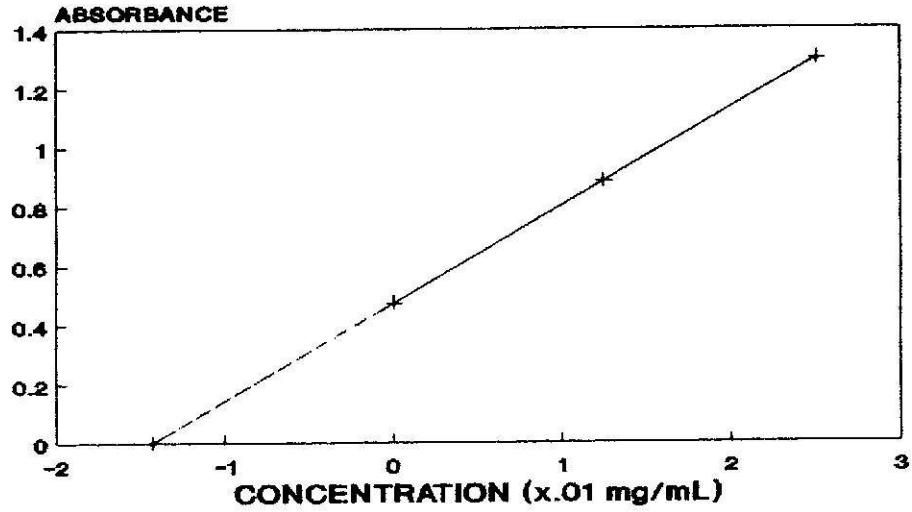


รูปที่ 6 แสดงผลการพลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม และค่า absorbance ที่วัดได้ ของยาบริษัทที่ 1
(X coefficient = 32.4, constant = 0.3996, R square = 0.9999)



รูปที่ 7 แสดงผลการพลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม และค่า absorbance ที่วัดได้ ของยาบริษัทที่ 2

(X coefficient = 32.8, constant = 0.3593, R square = 0.9999)



รูปที่ 8 แสดงผลการพลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม และค่า absorbance ที่วัดได้ ของยาบริษัทที่ 3

(X coefficient = 32.96, constant = 0.4733, R square = 0.9999)

ผลการ extrapolate ไปตัดแกนนอนได้ค่าความเข้มข้นของไดโคลฟีแนคโซเดียม ดังนี้

บริษทที่ 1 เท่ากับ 0.0123 mg/mL

บริษทที่ 2 เท่ากับ 0.0109 mg/mL

บริษทที่ 3 เท่ากับ 0.0143 mg/mL

<u>การคำนวณ % label amount ของยาบริษัทที่ 1</u>

ผงยาที่ชั่ง 3.0700 g มีตัวยา = 0.0123x200x200 mg/mL

ยา 1 เม็ดจะมีไดโคลฟีแนคโซเดียม = $\frac{0.0123 \times 200 \times 200 \times 0.1535}{3.0700}$ mg

% label amount = $\frac{0.0123 \times 200 \times 200 \times 0.1535 \times 100}{25 \times 3.0700}$

= 98.40

คำนวณเช่นเดียวกันจะได้ % label amount ของบริษัทที่ 2 = 87.22

คำนวณเช่นเดียวกันจะได้ % label amount ของบริษัทที่ 3 = 114.3

11.5 การหาปริมาณไดโคลฟีแนคโซเดียมโดยการวัดการดูดกลืนแสงโดยตรง

ในการทดลองวิเคราะห์ยาของ 3 บริษัท ได้เพิ่มการทดลองขึ้น 1 ขั้นตอน โดยนำสาร-ละลายสารมาตรฐาน A มา 3 mL และปรับปริมาตรด้วย 0.1 M NaOH ให้ได้ปริมาตรครบ 200 mL ซึ่งความเข้มข้นสุดท้ายจะเท่ากับ 0.0375 mg/mL

สารละลายมาตรฐานนี้ได้เตรียมขึ้นในแต่ละครั้งที่ทำการวิเคราะห์ยาของแต่ละบริษัท ค่า absorbance ที่ได้ในการทำการทดลองทั้ง 3 ครั้งเป็นดังนี้

		absorbance		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารมาตรฐาน	ตัวอย่างที่ 1	1.235	1.232	1.256
(0.0375 mg/mL)	ตัวอย่างที่ 2	1.235	1.232	1.256
	ตัวอย่างที่ 3	1.235	1.232	1.256
	ตัวอย่างที่ 4	1.235	1.232	1.256
	เฉลี่ย =	1.235	1.232	1.256
	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน =	0.000	0.000	0.000

ในการทดลองวิธี standard addition ในข้อ 11.4 สารละลายใน volumetric flask 1 จะเป็นสารละลายของยาตัวเดียว เนื่องจากไม่มีการเติมสารมาตรฐานลงใน flask

dilution factor ของสารละลายตัวอย่างจะเท่ากับ 200x200

ค่า absorbance ที่วัดได้ ซึ่งได้แสดงไว้ในข้อ 11.4 คือ

		absorbance		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
volumetric flask 1	ตัวอย่างที่ 1	0.400	0.360	0.472
	ตัวอย่างที่ 2	0.400	0.360	0.472
	ตัวอย่างที่ 3	0.400	0.360	0.472
	ตัวอย่างที่ 4	0.400	0.360	0.472
	เฉลี่ย =	0.400	0.360	0.472
	เบี่ยงเบนมาตรฐาน =	0.00	0.000	0.000

$$\% \text{ label amount ของยาบริษัทที่ 1} = \frac{0.0375 \times 0.400 \times 200 \times 200 \times 100 \times 0.1535}{1.235 \times 25 \times 3.0700}$$

$$= 97.16$$

$$\% \text{ label amount ของยาบริษัทที่ 2} = \frac{0.0375 \times 0.360 \times 200 \times 200 \times 100 \times 0.1441}{1.232 \times 25 \times 2.8811}$$

$$= 87.69$$

$$\% \text{ label amount ของยาบริษัทที่ 3} = \frac{0.0375 \times 0.472 \times 200 \times 200 \times 100 \times 0.1437}{1.256 \times 25 \times 2.8746}$$

$$= 112.7$$

บทที่ 4

ผลการทดลองและสรุป

1. ผลการวิเคราะห์หา % label amount

1.1 ผลการวิเคราะห์โดยวิธีการสกัด

		% label amount		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารตัวอย่าง C	ตัวอย่างที่ 1	91.53	86.66	111.05
	ตัวอย่างที่ 2	90.80	86.66	109.77
	ตัวอย่างที่ 3	92.01	86.66	111.63
	ตัวอย่างที่ 4	90.80	86.66	112.33
สารตัวอย่าง D	ตัวอย่างที่ 1	88.62	85.31	106.41
	ตัวอย่างที่ 2	90.72	85.31	107.11
	ตัวอย่างที่ 3	90.72	85.31	107.35
	ตัวอย่างที่ 4	92.01	85.31	108.59
	mean	90.90	85.99	109.28
	S.D.	1.01	1.01	2.10

1.2 ผลการวิเคราะห์โดยวิธี difference spectrophotometry

		% label amount		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารตัวอย่าง E	ตัวอย่างที่ 1	92.40	86.14	109.83
	ตัวอย่างที่ 2	91.20	86.73	110.73
	ตัวอย่างที่ 3	90.60	87.61	111.63
	ตัวอย่างที่ 4	91.20	84.66	111.63

		% label amount		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
สารตัวอย่าง F	ตัวอย่างที่ 1	91.20	85.35	110.98
	ตัวอย่างที่ 2	91.20	85.84	111.38
	ตัวอย่างที่ 3	91.20	86.14	112.18
	ตัวอย่างที่ 4	89.20	86.63	112.18
	mean	91.03	86.14	111.32
	S.D.	0.83	0.84	0.74

1.3 ผลการวิเคราะห์โดยวิธี standard addition

% label amount		
บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
98.40	87.22	114.3

1.4 ผลการวิเคราะห์โดยการวัดโดยตรง

		% label amount		
		บริษัทที่ 1	บริษัทที่ 2	บริษัทที่ 3
volumetric flask 1	ตัวอย่างที่ 1	97.16	87.67	112.70
	ตัวอย่างที่ 2	97.16	87.67	112.70
	ตัวอย่างที่ 3	97.16	87.67	112.70
	ตัวอย่างที่ 4	97.16	87.67	112.70
	mean	97.16	87.67	112.70
	S.D.	0.00	0.00	0.00

2. การหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณยาที่วิเคราะห์ได้โดยวิธีต่างๆ

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ % label amount ของยาแต่ละบริษัท ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยวิธีต่างๆ 4 วิธี ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS/PC+ ด้วยคำสั่ง ONEWAY การทดสอบความเท่ากันของความแปรปรวนใช้ Bartlett-Box F และใช้ SCHEFFE สำหรับการเปรียบเทียบเชิงซ้อนเมื่อค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเป็นดังนี้

1. ผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ยาเม็ดไดโคลฟีแนคโซเดียมของบริษัทที่ 1

-ความแปรปรวนของแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.10

-% label amount เฉลี่ยที่ได้โดยวิธีการต่างๆมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คือ

วิธี extraction กับวิธี standard addition

วิธี extraction กับวิธีวัดโดยตรง

วิธี difference spectrophotometry กับวิธี standard addition

วิธี difference spectrophotometry กับวิธีวัดโดยตรง

2. การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ยาเม็ดไดโคลฟีแนคโซเดียมของบริษัทที่ 2

-ความแปรปรวนของแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.10

-% label amount เฉลี่ยที่ได้โดยวิธีการต่างๆมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คือ

วิธี extraction กับวิธีวัดโดยตรง

วิธี difference spectrophotometry กับวิธีวัดโดยตรง

3. การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ยาเม็ดไดโคลฟีแนคโซเดียมของบริษัทที่ 3

-ความแปรปรวนของแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.10

-% label amount เฉลี่ยที่ได้โดยวิธีการต่างๆมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คือ

วิธี extraction กับวิธี standard addition

วิธี extraction กับวิธีวัดโดยตรง

3. สรุป

3.1 การวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไดโคลฟีแนคโซเดียม โดยวิธีต่างๆ 4 วิธี คือ วิธีการวัดโดยตรง การสกัด difference spectrophotometry และ standard addition

วิธีสกัดเป็นวิธีที่ใช้เป็นมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบผลจากการวิเคราะห์โดยวิธีอื่นๆ เนื่องจากการสกัดจะช่วยในการกำจัดสารอื่นที่อาจรบกวนการวิเคราะห์ ผลวิเคราะห์ที่ได้โดยวิธีสกัดจึงค่อนข้างถูกต้อง

3.2 ได้ปรับปรุงวิธีการสกัดไดโคลฟีแนคโซเดียมจากยาเม็ดให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และวิธีการสกัดนี้สามารถใช้เป็นวิธีหนึ่งในการวิเคราะห์หาปริมาณสารได้

3.3 จากการทดสอบทางสถิติของข้อมูลการวิเคราะห์ที่ได้ การวิเคราะห์โดยวิธีการสกัดและวิธี difference spectrophotometry ให้ผลที่ไม่มีความแตกต่างกัน จึงอาจใช้การวิเคราะห์โดยวิธี difference spectrophotometry แทนวิธีวิเคราะห์โดยการสกัด หรือใช้วิธีนี้เป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไดโคลฟีแนคโซเดียมในยาเม็ดได้ ซึ่งทำให้การวิเคราะห์ทำได้ง่ายและรวดเร็ว และมีความถูกต้องเช่นเดียวกัน

3.4 การวิเคราะห์โดยวิธี standard addition และการวัดโดยตรง ให้ผลที่แตกต่างกับวิธีการสกัด ซึ่งอาจแสดงว่าสารประกอบอื่นในยาเม็ดของบางบริษัทอาจส่งผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ได้เมื่อไม่มีการสกัดสารเหล่านี้ออก หรือไม่ทำการหักล้างการรบกวนของสาร โดยการใช้วิธี difference spectrophotometry ดังนั้นการวิเคราะห์โดยวิธี standard addition และการวัดโดยตรง อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

1. Skoutakis, V. A.; Carter, C. A.; Mickle, T. R.; Smith, V. H.; Arkin, C. R.; Alissandratos, J.; Petty, D. E. "Review of Diclofenac and Evaluation of its Place in Therapy as Nonsteroidal Antiinflammatory Agent" *Drug. Intell. Clin. Pharm.* **1988**, *22*, 850-859.

2. Brogden, R. N.; Heel, R. C.; Pakes, G. E.; Speight, T. M.; Avery, G. S. "Diclofenac Sodium: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Rhumatic Diseases and Pain of Varying Origin" *Drugs* **1980**, *20*, 24-48.

3. Sane. R. T.; Samant, R. S.; Nayak, V. G. "High Performance Liquid Chromatography Determination of Diclofenac Sodium from Pharmaceutical Preparation" *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1987**, *13*, 1307-1314.

4. Beaulieu, N.; Lovering, E. G.; Lefrancois, J.; Ong, H. "Determination of Diclofenac Sodium and Related Compounds in Raw Material and Formulations" *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1990**, *73*, 698-701.

5. Sastry, C. S.; Rao, A. R.; Gopata Krishna, C. V.; Murthy, A. G. "Gas Liquid Chromatography Determination of Diclofenac Sodium Tablets" *Indian J. Pharm. Sci.* **1988**, *50*, 175-178.

6. Agrawal, Y. K.; Upadhyay, V. P.; Menon, S. K. "Spectrophotometric Determination of Diclofenac Sodium" *Indian J. Pharm. Sci.* 1988, *50*, 58-60.

7. Agatonovic-Kustrin, S.; Zivanovic, Lj.; Radulovic, D.; Vasijevic, M. "Experimental Design Applied to a Spectrophotometric Study of a Diclofenac Sodium-Copper(II) Complex" *Analyst* **1991**, *116*, 753-756.

8. Davision, A. G. In *Practical Pharmaceutical Chemistry* 4 th ed.; Beckett, A. H.; Stenlake, J. B., Eds; Athlone Press: London, 1988; Part II, pp 275-337.

9. Bader, M. "A Systematic Approach to Standard Addition Methods in Instrumental Analysis" *J. Chem. Educ.* **1980**, *57*, 703-706.

10. Sallmann, A. R. "The History of Diclofenac" *Am. J. Med.* **1986** *80 (suppl 4B)*, 29-33.

11. Moffat, A. C.; Jackson, J. V.; Moss, M. S.; Widdop, B. In *Clark's Isolation and Identification of Drugs* 2 nd ed.; Pharmaceutical Press: London, 1986, p 533.

12. Mo, Z; Chen, S. "Ultra-violet Spectrophotometric Determination of Compound Diclofenac Injection" *Anal. Abs.* **1989**, *36* 5E45