

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** การพัฒนาเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรีและโครมาโทกราฟีแบบใหม่  
เพื่อการหาปริมาณยาบางชนิด

**ผู้เขียน** นางสาวนภาพร ชัยวิเศษ

**ปริญญา** วิทยาศาสตร์คหุภัณฑ์บัณฑิต (เคมี)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สายสุนีย์ เหล็กขี้เหล็ก	ประธานกรรมการ
ศาสตราจารย์ ดร. อลัน เทาเว้แซนด์	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. บุญสม เหล็กขี้เหล็ก	กรรมการ
ดร. พลยุทธ สุขสมิตติ	กรรมการ

#### บทคัดย่อ

ได้ทำการพัฒนาวิธี เคอริวาทีฟสเปกโทรโฟโตเมตรี ไมเซลลาร์ลิควิดโครมาโทกราฟี (เอ็มแอลซี) และโฟลโอสโตรเมตรีพร้อมตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ (เอฟไอ-ซีแอล) เพื่อหาปริมาณยาบางชนิด นำไปสู่วิธีเคมีวิเคราะห์ที่สะอาด

ได้ทำการพัฒนาวิธีเคอริวาทีฟสเปกโทรโฟโตเมตรีสำหรับการหาปริมาณคลอเฟนิรามีน มาลีเอท (ซีพีเอ็ม) และ ซูโดเอพริคีนไฮโดรคลอไรด์ (พีเอสอี) แบบพร้อมกัน โดยใช้สเปกโทรโฟโตเมตรีอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (เดลตาแลมดา 2 นาโนเมตร) วัดสัญญาณด้วยวิธีซีโรคลอสซิง ที่

277.5 และ 260.8 นาโนเมตรตามลำดับ จากการศึกษาความเป็นเส้นตรงของซีพีเอ็มและพีเอสอีในช่วง 1-120 และ 10-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าอาร์สแควร์ > 0.999 บิดจำกัดต่ำสุด (แอลโอ

ดี) 0.29 (ซีพีเอ็ม) และ 1.06 (พีเอสอี) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้นำวิธีนี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ยาทั้งสองในตัวอย่างไม่เตรียมโดยปราศจากขั้นตอนการสกัดหรือการแยก

ได้ทำการพัฒนาเอ็มแอลซีสำหรับการหาปริมาณยาโดยใช้คอลัมน์ซีลบีแปด ขนาดสั้น (12.5 x 4.6 มม., 5 ไมครอน) ศึกษาพฤติกรรมรีเทนชันของยา เช่น ซีพีเอ็ม พีเอสอี และเกลือไฮโดรคลอไรด์ของเฟนิลโพรพานอลามีน (พีพีเอ็ม) ไตรโพรลิดีน (ทีอาร์ไอ) โทลเพอริโซน (ทีพี) และลิโดเคน (แอลดี) โดยใช้ตัวพาโซเดียมโอดีซิลซัลเฟต (เอสดีเอส) และไอโซโพรพานอลที่

ความเข้มข้นต่างๆ ได้ทำการศึกษาหาปริมาณแอลดีและทีพี ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมประกอบด้วย ตัวพาเอสดีเอส 0.075 โมลต่อลิตร และไอโซโพรพานอล 7.5 % โดยปริมาตร ด้วยอัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ 210 นาโนเมตร กราฟมาตรฐานสำหรับแอลดีและทีพี มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.125-500 และ 1-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยค่าอาร์สแควร์ > 0.999 และแอลไอดี 0.73 และ 1.43 นาโนกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร ตามลำดับ วิธีนี้นำไปประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณยาทีพีและ/หรือแอลดี ในยาเตรียม 8 ตำรับ โดยปราศจากการใช้รีเอเจนต์ที่เป็นอันตราย ได้ทำการสร้างระบบเอฟไอ-ซีแอลขึ้นสองระบบ โดยระบบแรกใช้ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ของเปอร์มังกานตเพื่อหาปริมาณซินนาริซีน (ซีไอเอ็น) จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าทวิน 60 ทำให้แอลไอดี ดีขึ้นถึง 20 เท่า สภาวะที่เหมาะสมประกอบด้วย กระแสออกซิเจนต์โปแตสเซียมเปอร์มังกานต  $7.5 \times 10^{-4}$  โมลต่อลิตรใน 0.02 โมลต่อลิตรกรดโพลีฟอสฟอริก และกระแสตัวพาที่มีเอทธานอล 10 % โดยปริมาตร และ  $1.5 \times 10^{-3}$  โมลต่อลิตรของทวิน 60 อัตราการไหล 7.6 มิลลิลิตรต่อนาที กราฟมาตรฐานมีความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.5-6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ค่าอาร์สแควร์ 0.9926) โดยมีขีดจำกัดต่ำสุด (3 ซิกมา) 18 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากลดปริมาณสารเคมียังสามารถลดเวลาในการวิเคราะห์ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ซีไอเอ็นในยาเม็ด เอฟไอ-ซีแอล โดยใช้ซีเรียม(IV) เคมีลูมิเนสเซนซ์ ถูกพัฒนาเพื่อหาปริมาณโพรพาราเคน (ฟิอาร์พี) โพรเคน (ฟิอาร์ซี) และเตตระเคน (ทีไอซี) ในรูปไฮโดรคลอไรด์ ระบบประกอบด้วย กระแสออกซิเจนต์ซีเรียม(IV)  $7.5 \times 10^{-3}$  โมลต่อลิตร ในกรดซัลฟูริก 0.2 โมลต่อลิตรและกระแสเซนซิไทเซอร์โรดามิน 6 จี  $6.0 \times 10^{-5}$  โมลต่อลิตรในกรดซัลฟูริก 0.05 โมลต่อลิตร ที่อัตราการไหล 3.3 มิลลิลิตรต่อนาที เซททิวไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (ซีทีเอบี) 1.86 มิลลิโมลต่อลิตร ถูกใช้เพิ่มสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ของฟิอาร์พี ที่อัตราการไหลที่เหมาะสม 7.8 มิลลิลิตรต่อนาที กราฟมาตรฐานยาทั้งสามเป็นแบบโพลีโนเมียลอันดับสาม มีค่าอาร์สแควร์มากกว่า 0.99 และแอลไอดี (3 ซิกมา) ของฟิอาร์พี ฟิอาร์ซี และทีไอซี เท่ากับ  $2.5 \times 10^{-8}$ ,  $2.0 \times 10^{-7}$  และ  $2.2 \times 10^{-7}$  โมลต่อลิตรตามลำดับ โดยในการฉีดสารตัวอย่าง 140-300 ครั้งใช้เวลา 1 ชั่วโมง และวิธีนี้นำไปประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณยา ฟิอาร์พี ฟิอาร์ซี และทีไอซี ในยาเตรียม 3 ตำรับให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 3 %

**Thesis Title** Development of Spectrophotometric and Modern Chromatographic Techniques for Determination of Some Pharmaceuticals

**Author** Miss Napaporn Youngvises

**Degree** Doctor of Philosophy (Chemistry)

**Thesis Advisory Committee**

Assistant Professor Dr. Saisunee Liawruangrath	Chairperson
Professor Dr. Alan Townshend	Member
Associate Professor Dr. Boonsom Liawruangrath	Member
Dr. Ponlayuth Sooksamiti	Member

**ABSTRACT**

Derivative spectrophotometric, micellar liquid chromatographic (MLC) and flow injection with chemiluminescence detection (FI-CL) techniques were developed for determination of some pharmaceuticals to achieve a “Green Analytical Method”.

Derivative spectrophotometry was developed for simultaneous determination of chlorpheniramine maleate (CPM) and pseudoephedrine hydrochloride (PSE) by first derivative spectrophotometry ( $\Delta\lambda = 2$  nm) with zero-crossing measurement at 277.5 nm and 260.8 nm, respectively. The linearity were studied in the range 1-120  $\mu\text{g ml}^{-1}$  for CPM and 10-1000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  for PSE with  $r^2 > 0.999$ . The limits of detection (LOD) were 0.29 (CPM) and 1.06 (PSE)  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . This method was applied to determine both drugs in pharmaceutical preparations without any extraction or separation procedure.

MLC was developed for some pharmaceuticals using a C18 short column (12.5 x 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ). The retention behaviors of pharmaceuticals such as CPM, PSE and the hydrochloride salts of phenylpropanolamine (PPA), triprolidine (TRI), tolperisone (TP) and lidocaine (LD) were studied at various concentrations of

sodium dodecyl sulfate (SDS) and isopropanol. The determination of LD and TP was carried out by optimum conditions consisted of mobile phase  $0.075 \text{ mol l}^{-1}$  SDS with 7.5 % (v/v) isopropanol,  $0.7 \text{ ml min}^{-1}$  flow rate and detection at 210 nm. The calibration curves for LD and TP were linear over the ranges  $0.125\text{-}500 \text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$  and  $1.0\text{-}500 \text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$  with  $r^2 > 0.999$ . The LODs were  $0.73$  and  $1.43 \text{ ng } 20 \text{ }\mu\text{l}^{-1}$ , respectively. The method was successfully applied to the determination of TP and/or LD in eight pharmaceutical preparations, without using any harmful reagents.

Two FI-CL systems were investigated, first, a permanganate CL system was developed to determine cinnarizine (CIN). Preliminary experiments revealed that the use of Tween 60 as surfactant improved the LOD of the CL system 20-fold. Optimum CL signals were obtained using  $7.5 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$   $\text{KMnO}_4$  in  $0.02 \text{ mol l}^{-1}$  polyphosphoric acid as the oxidant stream and a carrier stream of 10 % (v/v) ethanol in aqueous  $1.5 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$  Tween 60 with a total flow rate of  $7.6 \text{ ml min}^{-1}$ . The calibration graph was linear over the range  $0.5\text{-}6.0 \text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$  ( $r^2 = 0.9926$ ). The detection limit ( $3\sigma$ ) was  $18 \text{ ng ml}^{-1}$  with decreasing not only reagent consumption but also the analysis time. It can be applied to determine CIN in tablets.

FI-CL using Ce(IV) CL was developed to determine proparacaine (PRP), procaine (PRC) and tetracaine (TEC) as their hydrochlorides. The system consisted of an oxidant stream,  $7.5 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$  Ce(IV) in  $0.2 \text{ mol l}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ , and sensitizer,  $6 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  rhodamine 6G in  $0.05 \text{ mol l}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  with a flow rate of  $3.3 \text{ ml min}^{-1}$ .

The presence of  $1.86 \text{ mmol l}^{-1}$  cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) enhanced the CL of PRP with the re-optimized flow rate of  $7.8 \text{ ml min}^{-1}$ . The calibration graphs for these drugs fitted a polynomial order of three with  $r^2 > 0.99$ . The LODs ( $3\sigma$ ) for PRP, PRC and TEC were  $2.5 \times 10^{-8}$ ,  $2.0 \times 10^{-7}$  and  $2.2 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ , respectively, with sample throughput  $140\text{-}300 \text{ h}^{-1}$ . This method was applied to the determination of PRP, PRC and TEC in three preparations with the RSD of  $< 3\%$ .