

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์สัทธิรอยคัสอร์โมนบางชนิดในยาเม็ดคุมกำเนิด
โดยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ชื่อผู้เขียน นายศกดิ์สิทธิ์ จันทรไทย

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ :

ผศ. ดร. สายสุนีย์	เหลียวเรืองรัตน์	ประธานกรรมการ
ผศ. ดร. ยุทธศักดิ์	วุฒิสอน	กรรมการ
อจ. ดร. สุรศักดิ์	วิมเนสก์	กรรมการ

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาพฤติกรรมการแยกสัทธิรอยคัสอร์โมนบางชนิดโดยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ระบบโครมาโตกราฟีที่ใช้ประกอบด้วยคอลัมน์แบบเรเคียม-แพคไมโคร บอนดาแพค ซี 18 (ยาว 10 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 8 มม. ขนาดอนุภาค 10 ไมโครเมตร) ร่วมกับระบบ เรเคียม คอมเพรสชั่น (แซค-โมตุล) และตรวจสอบสารที่แยกได้โดยใช้เครื่องตรวจวัดแบบ อุลตราไวโอเลท สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 213 นาโนเมตร ได้ศึกษาหาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมทางโครมาโตกราฟี ได้พบระบบตัวทำละลายซึ่งเหมาะสมสำหรับใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ 2 ระบบ เฟสเคลื่อนที่ชนิดที่หนึ่ง เป็นส่วนผสมของเมทานอลกับน้ำ (85: 15 โดยปริมาตร) ซึ่งสามารถใช้ในการแยกส่วนผสมของ เอthinil เอสตราไดออล เมสทรานอล และไลเนส-ทรินอล โดยมีโปรเจสเทอโรน เป็นอินเทอนอลแอสแตนคาร์ค เฟสเคลื่อนที่อีกชนิดหนึ่งประกอบด้วย อะซิโตนไตรกับน้ำ (80 : 20 โดยปริมาตร) ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกส่วนผสมของ เอthinil เอสตราไดออล และลิโวนอเจสทรีล โดยใช้โปรเจสเทอโรน เป็นอินเทอนอล แอสแตนคาร์ค พบว่า อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ทั้งสองเท่ากับ 2.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ ภายใต้สภาวะดังกล่าว สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 9.6 และ 5.6 นาที ตามลำดับ

ได้ประยุกต์ใช้วิธีการทดลองนี้ ในการวิเคราะห์หาปริมาณของสตีรอยด์ฮอร์โมน คิงกลาว ในตัวอย่างยาเม็ดคุมกำเนิดที่มีขายอยู่ในตลาด จำนวน 20 ชนิด วิเคราะห์หา ปริมาณด้วยยาเอสโตรเจน และโปรเจสตินตามวิธีระบุไว้ ในส่วนผสมของยาเม็ดคุมกำเนิด โดยนำเสนอผลการวิเคราะห์ในเทอมของเปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่ระบุไว้ในฉลากยา และ พบว่ามีปริมาณยาอยู่ในช่วง 95.50-105.58% สำหรับ เอthinil เอสตราไดออล 95.03-102.60 % สำหรับเมสทรานอล 99.20-105.00% สำหรับไลเนสทรินอล และ 84.24-98.43 % สำหรับลีโวนอเจสทรีล ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของเทคนิคนี้ เท่ากับ 0.95 % และไครอยละของการคืนกลับเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ด้วยฮอร์โมนแต่ละชนิด ในส่วนผสมที่เตรียมขึ้นได้ค่าเท่ากับ 97.78 97.09 98.29 และ 98.46 สำหรับสาร ประกอบเอthinil เอสตราไดออล เมสทรานอล ไลเนสทรินอลและลีโวนอเจสทรีล ตามลำดับ

นอกจากนี้ได้ศึกษาพฤติกรรมการแยกโดยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูงของสตีรอยด์ฮอร์โมนจากธรรมชาติ และสตีรอยด์ฮอร์โมนสังเคราะห์บางตัวที่มีโครงสร้างสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด พบว่า เกิดการแยกออกจากกันได้ยากเมื่อใช้ระบบตัว ทำละลาย 2 ชนิด และพบว่าการเติม ไดเอทิล อีเทอร์ หรือ ไดไอโซโพรพิล อีเทอร์ ปริมาณน้อยๆ ซึ่งใช้เป็นสารประกอบอินทรีย์ปรับสภาพขั้วลงในเฟสเคลื่อนที่จะลดค่า คาพา-ซิติ์ แฟคเตอร์ และช่วยปรับปรุงค่าซีเลคติวิตีของระบบที่ศึกษาได้ ดังนั้นจึงเกิดการแยกได้ คิชน

Thesis Title Determination of Some Steroid Hormones in Oral
Contraceptive Tablets by High Performance Liquid
Chromatography

Author Mr. Saksit Chanthai

Examining Committe Assist. Prof. Dr.Saisunee Liawruangrath Chairman
 Assist. Prof. Dr.Yuthsak Vaneesorn Member
 Lecturer Dr.Surasak Watanesk Member

Abstract

In this research, the high performance liquid chromatographic behavior of some steroid hormones was studied. The chromatographic system used consisted of a Radial-Pak column, μ Bondapak C₁₈ (10 cm. x 8 mm.i.d., 10 μ m.) associated with a radial compression separation system (Z-module) with the eluates being measured simultaneously by using an ultraviolet spectrophotometric detector at 213 nanometers. The optimum chromatographic conditions were investigated. Two solvent systems were found to be suitable mobile phases. The first mobile phase was a mixture of methanol and water (85 : 15, v/v) which could be used for separating a mixture of ethinyloestradiol, mestranol and lynoestrenol in the presence of progesterone as internal standard. The other mobile phase consisted of acetonitrile and water (80:20, v/v) which was a suitable solvent for the separation of ethinyloes- tradiol and levonorgestrel using progesterone as internal standard. The optimum flow rates of the two mobile phases were 2.0 and 1.5 ml.min.⁻¹ respectively while, under these conditions, complete

separation could be achieved within 9.6 and 5.6 minutes, respectively.

This method has been applicable to the determination of the cited steroid hormones in twenty commercially available samples of oral contraceptive tablets. The uniformity contents of each oestrogenic and progestogenic ingredient in oral contraceptive formulations were expressed in terms of percentage labelled amounts and found to be in the ranges of 95.50-105.58% for ethinyloestradiol, 95.03-102.60% for mestranol, 99.02-105.00% for lynoestrenol and 84.24-98.43% for levonorgestrel. The relative standard deviation of this technique was found to be 0.95% and the average percentage recoveries of each steroid hormone in the synthetic admixture prepared were found to be 97.78, 97.09, 98.29 and 98.46 for ethinyloestradiol, mestranol, lynoestrenol and levonorgestrel, respectively.

In addition, the high performance liquid chromatographic behavior of some natural and synthetic steroid hormones of closely related structures were also studied. It was found that poor resolution was obtained when the binary solvent systems were used as mobile phases and that the addition of a small amount of diethyl ether or diisopropyl ether in the mobile phase as an organic modifier resulted in a decrease in the capacity factor and an improvement in the selectivity of the system studied. Hence, better resolution was obtained.