

The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences

Volume 11
Issue 1 1986

Article 1

1-1-1986

ความคงตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา

สุวรรณา เหลืองชลธาร

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjps>



Part of the [Pharmacology Commons](#)

Recommended Citation

เหลืองชลธาร, สุวรรณา (1986) "ความคงตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา," *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*: Vol. 11: Iss. 1, Article 1.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol11/iss1/1>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.



ประชุมพันธ์

ORIGINAL ARTICLE

ความคงตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา

สุวรรณา เหลืองชลธาร* ภม.

บทคัดย่อ

การศึกษาความคงตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตาที่มีจำหน่ายในท้องตลาด 7 ตำรับ โดยวิธี HPLC พบว่ายาทุกตำรับมีการสลายตัวเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวที่ 70, 60, และ 50 องศาเซลเซียส สัมพันธ์กับอุณหภูมิตามความสัมพันธ์ของอาร์รีเนียส และมีค่าความร้อนแห่งการกระตุ้น 20-22 กิโลแคลอรี/โมล ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวที่คาดการณ์จากเส้นตรงอาร์รีเนียสไปที่ 33 องศาเซลเซียส มีค่าไม่แตกต่างจากค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) ในช่วงที่มีความเบี่ยงเบนมาตรฐาน แต่ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวที่คาดการณ์ไปนั้นแตกต่างจากค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวที่อุณหภูมิในตู้เย็น (8 องศาเซลเซียส)

อายุการช้ยา ($t_{110-90\% LA.}$) ของยาตาทุกตำรับที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งได้จากการคาดการณ์ มีค่า 1.72-3.06 เดือน (เฉลี่ย 2.47 ± 0.47) และที่ได้จากสภาพจริงมีค่า 1.54-3.67 เดือน (เฉลี่ย 2.52 ± 0.85) ซึ่งค่าทั้งสองนี้ไม่แตกต่างกันในช่วงที่มีความเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยสรุปอายุการช้ยาของยาตาคลอแรมเฟนิคอลที่อุณหภูมิห้องมีค่าประมาณ 2.5 เดือน ซึ่งสั้นกว่าอายุการช้ยาที่ BPC 1973 กำหนดให้เป็น 4 เดือน ที่ 25 องศาเซลเซียส

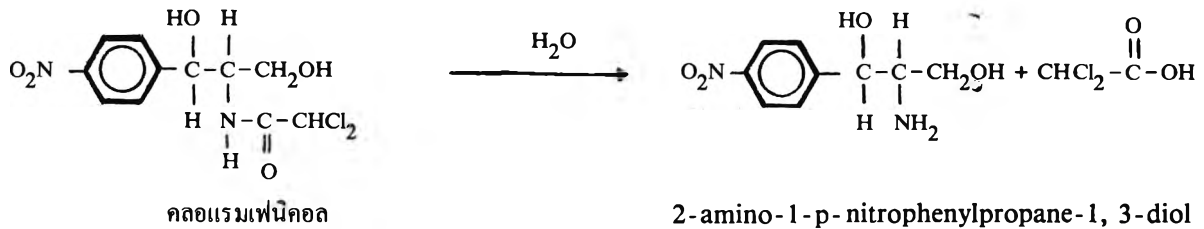
ส่วนอายุการช้ยาของยาตาทุกตำรับที่อุณหภูมิในตู้เย็นที่ได้จากการคาดการณ์มีค่า 27.9-80.3 เดือน (เฉลี่ย 54.4 ± 18.1) ซึ่งแตกต่างจากค่าที่ได้จากสภาพจริง ซึ่งมีค่า 1.75-3.27 เดือน (เฉลี่ย 2.07 ± 0.61) และค่าทั้งสองนี้แตกต่างจากค่าที่ BPC 1973 กำหนดให้เป็น 18 เดือนที่ 2-8 องศาเซลเซียส

การศึกษาความคงตัวโดยวิธีเร่งให้ยาสลายตัวด้วยความร้อน สามารถนำมาใช้หาอายุการช้ยาของยาตาคลอแรมเฟนิคอลที่อุณหภูมิห้องได้อย่างถูกต้อง สะดวกและรวดเร็ว (ไทยเภสัชสาร 11(1), 1-13 (2529))¹

* รองศาสตราจารย์ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

คลอแรมเฟนิคอลเมื่อละลายน้ำจะสลายตัวโดยปฏิกิริยาไฮโดรลิซิส



ดังนั้น BPC 1973 (1) จึงได้กำหนดมาตรฐานยาคลอแรมเฟนิคอล ทั้งปริมาณคลอแรมเฟนิคอลและปริมาณสารสลายตัว 2-amino-1-p-nitrophenylpropane-1, 3-diol ไม่ให้เกิน 5.0% ของปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในตำรับยา และได้กำหนดให้มีอายุการใช้ยา 4 เดือน ที่ 25 องศาเซลเซียส หรือมีอายุการใช้ยา 18 เดือน ถ้าเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส แต่ยาคลอแรมเฟนิคอลที่มีจำหน่ายในท้องตลาดส่วนมากได้กำหนดวันหมดอายุประมาณ 2 ปี โดยอาจจะบ่งให้เก็บในตู้เย็น แต่จากสภาพที่เป็นจริง ร้านขายยาทั่วไปได้วางยาไว้ที่อุณหภูมิห้อง และอาจไม่สนใจว่ายานั้นได้มีการสลายตัวไปแล้วมากน้อยเพียงใด

จากการศึกษาของ ดวงสมร ลิ้มปิติ (2) ได้ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณคลอแรมเฟนิคอลและสารสลายตัว 2-amino-1-nitrophenyl-1, 3-propanediol ในยาตาที่มีจำหน่ายในท้องตลาด 8 ตำรับ โดยวิธี HPLC พบว่ายา 7 ตำรับมีปริมาณคลอแรมเฟนิคอล ตั้งแต่ 41.42-85.5% ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐาน มีเพียงตำรับเดียวที่มีปริมาณ 93.13% และทุกตำรับมีสารสลายตัวเกิน 5.0% ของปริมาณคลอแรมเฟนิคอลที่ระบุไว้บนฉลากคือปริมาณตั้งแต่ 12.92-53.20% และทุกตำรับได้วิเคราะห์ก่อนวันหมดอายุทั้งสิ้น ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าวันหมดอายุที่ระบุไว้บนฉลากนั้นเชื่อถือไม่ได้

การศึกษาครั้งนี้ต้องการหาความคงตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา 7 ตำรับ โดยใช้วิธีเคมีจลนศาสตร์ โดยเร่งให้ยาสลายตัวเร็วขึ้นด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ เพื่อคาดการณ์หาอายุการใช้ยาที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิในตู้เย็น แล้วเปรียบเทียบกับอายุการใช้ยาตามสภาพจริง

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

ลิควิดโครมาโตกราฟของ Waters Associates, คอลัมน์ Zorbax ODS (15 ซม. x 4.6 มม.) ขนาด 5 ไมโครเมตร ของ Du Pont PN 883952-702, ฟรีคอลัมน์ Corasil C 18, ดีเทคเตอร์เป็นอุลตราไวโอเล็ต ที่ 254 นาโนเมตร และเครื่องบันทึกผลของ BBC Goerz Metrawatt รุ่น SE 120, ตู้อบชนิดอินคิวเบเตอร์ ของสหเภสัชเคมี และ Heraeus.

สารเคมี-เมธานอล HPLC เกรด ของ Fisher และ J.T. Baker มี UV cutoff ที่ 205 และ 204 นาโนเมตร

วิธีการ

- 1) หาความถ่วงจำเพาะ พีเอช และดูสิยาตาทุกตำรับ
- 2) อบตัวอย่างยาตาในตู้อบ ที่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (± 0.5) และนำไปไว้ในตู้เย็น (ประมาณ 8 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส)
- 3) วิเคราะห์หาปริมาณคลอแรมเฟนิคอลที่เหลืออยู่ที่ 70°ซ (ประมาณทุก ๆ วัน), ที่ 60°ซ (ประมาณทุก ๆ วันเว้นวัน), ที่ 50°ซ (ประมาณทุก ๆ วัน เว้น 2 วัน) ที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิในตู้เย็น (ประมาณทุก ๆ 8 วัน) ตามลำดับ โดยวิธี HPLC มีโมบายล์เฟส เป็น เมธานอล : น้ำ (60 : 40) ซึ่งได้กรองผ่านมิลลิพอร์ฟิลเตอร์ FH 0.45 ไมโครเมตร ภายใต้สุญญากาศ, อัตราเร็วการไหลของโมบายล์เฟส 1.0 มล./นาที ใช้ความดันประมาณ 2000 ปอนด์/ตารางนิ้ว ปรับความไว 0.2 ค่าการดูดแสงเต็มสเกล และอัตราเร็วการบันทึกผล 0.5 ซม./นาที

3.1) การเตรียมกราฟมาตรฐาน ซึ่งสารมาตรฐานคลอแรมเฟนิคอลอย่างถูกต้องประมาณ 125 มก. ละลายและเจือจางด้วยโมบายล์เฟสจนครบ 50.0 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วฉีดสารละลายนี้เข้าคอลัมน์ครั้งละ 10, 15 และ 20 ไมโครลิตร อย่างน้อยปริมาตรละ 3 ครั้ง บันทึกโครมาโตแกรม ได้พีกคลอแรมเฟนิคอลที่เวลารีเทนชัน 2.42 นาที วัดความสูงของพีกแต่ละครั้ง หาค่าเฉลี่ย และเขียนกราฟมาตรฐาน ระหว่างความสูงเฉลี่ยของพีก กับความเข้มข้น ซึ่งได้เส้นตรงผ่านจุดศูนย์ กราฟมาตรฐานนี้ให้เตรียมทุกวันที่วิเคราะห์

3.2) การวิเคราะห์หาปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในยาตา ซึ่งขวดแก้ววัดปริมาตรขนาด 10 มล. อย่างถูกต้อง หยดตัวอย่างยาดาลงในขวดแก้ววัดปริมาตรนี้ โดยให้มีเนื้อยากลอแรมเฟนิคอลประมาณ 0.5 มก. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและชั่งน้ำหนักอย่างถูกต้องอีกครั้ง ก็จะรู้น้ำหนักของตัวอย่างยาที่นำมาวิเคราะห์ เติมโมบายล์เฟสจนครบปริมาตร ผสมให้เข้ากันแล้วฉีดสารละลายนี้ 15 ไมโครลิตรเข้าคอลัมน์ 3 ครั้ง บันทึกโครมาโตแกรม วัดความสูงของพีกคลอแรมเฟนิคอลที่เวลารีเทนชัน 2.42 นาที และหาค่าเฉลี่ย

คำนวณปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในยาตา เป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณคลอแรมเฟนิคอลที่ระบุไว้บนฉลาก (%LA.) ดังนี้

$$\%LA. = (P/P_s) \times C_s \times (100/L \times W/S)$$

เมื่อ	P	เป็นความสูงเฉลี่ยของพีกคลอแรมเฟนิคอลในยาตาตัวอย่าง
	P _s	เป็นความสูงเฉลี่ยของพีกคลอแรมเฟนิคอลมาตรฐาน
	C _s	เป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐาน
	L	เป็นปริมาณคลอแรมเฟนิคอลที่ระบุไว้บนฉลาก
	W	เป็นน้ำหนักสารตัวอย่าง
	S	เป็นความถ่วงจำเพาะของยาตา

- 4) เขียนกราฟปริมาณคลอแรมเฟนิคอลที่เหลืออยู่ในยาแต่ละตำรับแต่ละอุณหภูมิเทียบกับเวลาที่ใช้ในการละลายตัว เพื่อหาอันดับปฏิกิริยาการละลายตัว (order of reaction rate)

5) หาค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (rate constant, k) จากสโลปของเส้นตรงโดยวิธี Least Squares และหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Sk)

6) เขียนกราฟลอการิทึม ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอล ที่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เทียบกับส่วนกลับของอุณหภูมิองศาเคลวิน ตามความสัมพันธ์อาร์เรนีอุส (Arrhenius relationship) เพื่อคาดการณ์ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอล ที่อุณหภูมิห้อง (33 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิในตู้เย็น (8 องศาเซลเซียส) ตามลำดับ โดยใช้วิธีเส้นตรงถดถอย (linear regression) พร้อมทั้งหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการคาดการณ์ (Sk) ด้วย นอกจากนี้ยังหาค่าความร้อนแห่งการกระตุ้น (heat of activation) จากสโลปของเส้นอาร์เรนีอุส คูณกับค่าคงที่แก๊ส (R = 1.987 กิโลแคลอรี ต่อองศา ต่อโมล)

7) คำนวณอายุการช้ยา (shelf-life) ของคลอแรมเฟนิคอลในยาตาจาก 110.0% LA. สลายตัวจนเหลือ 90.0% LA. (t 110-90% LA.) โดยเปรียบเทียบอายุการใช้งานจากการคาดการณ์ กับสภาพจริงที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิในตู้เย็น

ผลการทดลอง

ปฏิกิริยาการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตาทุกตำรับ ที่ 70, 60; 50 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ส่วนที่อุณหภูมิในตู้เย็นมียาตำรับที่ 2 และ 4 ที่เข้าใกล้อันดับศูนย์มากกว่า นอกนั้นเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งทั้งสิ้น ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอล (k) ในยาตาทุกตำรับ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Sk) คำนวณจากเส้นตรงของกราฟปฏิกิริยาการสลายตัวอันดับหนึ่ง มีหน่วย (วัน)⁻¹ ได้แสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่ 1 ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอล

ตำรับยา	ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว ($k \pm S_k$) $\times 10^3$ (วัน) ⁻¹				
	70°ซ	60°ซ	50°ซ	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิในตู้เย็น
1	113 ±2	42.4 ±0.8	17.3 ±0.7	3.78 ±1.13	3.68 ±1.19
2	110 ±2	52.2 ±2.0	16.2 ±0.6	4.34 ±0.71	2.04 ±1.88
3	116 ±2	45.8 ±1.5	15.4 ±0.6	3.19 ±1.14	4.04 ±0.47
4	109 ±2	43.3 ±1.3	15.1 ±0.5	1.83 ±0.61	3.69 ±0.80
5	115 ±1	43.7 ±0.7	14.4 ±0.3	1.83 ±0.49	4.05 ±1.61
6	107 ±4	41.9 ±0.8	15.0 ±1.1	2.56 ±0.66	2.66 ±0.75
7	109 ±6	45.7 ±0.6	15.4 ±0.7	2.89 ±0.61	3.83 ±0.43

ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตาทุกตำรับ ที่ 70, 60 และ 50 องศาเซลเซียส เทียบกับส่วนกลับของอุณหภูมิองศาเคลวิน ได้เป็นเส้นตรงตามสมการอาร์รีเนียส มีค่าสหสัมพันธ์ (coefficient of determination) ตั้งแต่ 0.9883-0.9999 มีค่าความร้อนแห่งการกระตุ้น, อยู่ระหว่าง 20-22 กิโลแคลอรี/โมล และค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวที่คาดการณ์ (\hat{k}) ไปที่ 33 และ 8 องศาเซลเซียส พร้อมกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการคาดการณ์ ($S_{\hat{k}}$) ได้แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์อาร์รีเนียสของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา

ตำรับยาตา	สมการอาร์รีเนียส	สหสัมพันธ์ (r^2)	ความร้อนแห่งการกระตุ้น Kcal/mole.	ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวจากการคาดการณ์, (วัน) ⁻¹	
				33°ซ, ($\hat{k} + S_{\hat{k}}) \times 10^3$	8°ซ, ($\hat{k} + S_{\hat{k}}) \times 10^4$
1	$\ln k = 28.01 - 10363.6 (1/T)$	0.9981	20.6	2.58 2.47 ถึง 3.27	1.40 1.08 ถึง 1.82
2	$\ln k = 28.96 - 10655.9 (1/T)$	0.9883	21.2	2.74 1.92 ถึง 3.86	1.23 0.63 ถึง 2.40
3	$\ln k = 30.54 - 11208.1 (1/T)$	0.9993	22.3	2.28 2.08 ถึง 2.49	0.876 0.740 ถึง 1.036
4	$\ln k = 29.67 - 10933.4 (1/T)$	0.9995	21.7	2.33 2.17 ถึง 2.50	0.971 0.849 ถึง 1.11
5	$\ln k = 31.33 - 11485.7 (1/T)$	0.9995	22.8	2.03 1.88 ถึง 2.19	0.719 0.621 ถึง 0.833
6	$\ln k = 29.43 - 10861.0 (1/T)$	0.9999	21.6	2.33 2.26 ถึง 2.40	0.992 0.936 ถึง 1.05

อายุการใช้ยา (t 110-90%LA.) ของยาตาทุกตำรับที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิในตู้เย็น ทั้งที่ได้จากการคาดการณ์ ตามสมการอาร์วีเนียส และที่ได้จากสภาพจริง ซึ่งคำนวณจากปฏิกิริยาการสลายตัวอันดับหนึ่ง ได้แสดงในตารางที่ 3 ซึ่งพบว่า อายุการใช้ยาของยาตาทุกตำรับที่อุณหภูมิห้อง จากการคาดการณ์ มีค่าตั้งแต่ 1.72-3.06 เดือน (เฉลี่ย 2.47 ± 0.47) และจากสภาพจริงมีค่าตั้งแต่ 1.54-3.67 เดือน (เฉลี่ย 2.52 ± 0.85) ส่วนอายุการใช้ยาของยาตาทุกตำรับที่อุณหภูมิในตู้เย็นจากการคาดการณ์มีค่าตั้งแต่ 27.9-80.3 เดือน (เฉลี่ย 54.4 ± 18.1) และจากสภาพจริงมีค่าตั้งแต่ 1.75-3.27 เดือน (เฉลี่ย 2.07 ± 0.61)

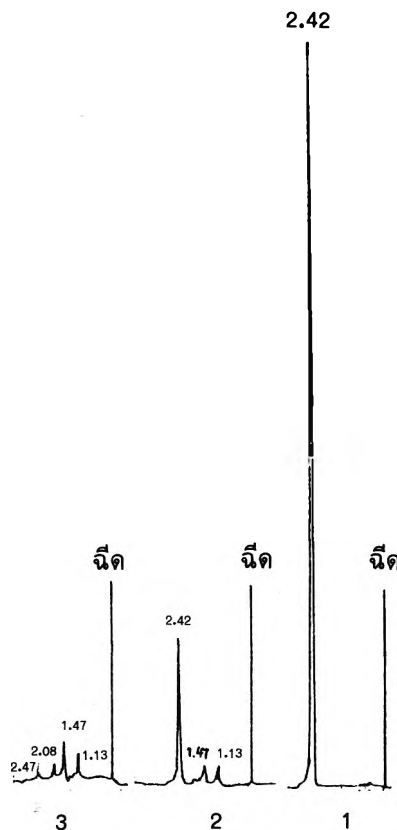
การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ พบว่าเมื่อยาสลายตัว สารละลายจะมีสีเหลือง และสีนั้นจะเข้มมากขึ้น เมื่อยาสลายตัวมากขึ้นในขณะที่ พีเอช ยิ่งต่ำลง

ตารางที่ 3 อายุการใช้ยาของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา

ตำรับยา	อายุการใช้ยาที่อุณหภูมิห้อง (เดือน)		อายุการใช้ยาที่อุณหภูมิในตู้เย็น (8°ซ.) (เดือน)	
	ค่าคาดการณ์จากความสัมพันธ์อาร์วีเนียส ที่ 33°ซ.	ค่าจากสภาพจริง (30-35°ซ.)	ค่าคาดการณ์จากความสัมพันธ์อาร์วีเนียส ที่ 8°ซ.	ค่าจากสภาพจริงในตู้เย็น (8°ซ.)
1	2.35 (2.04-2.69)	1.77 (1.36-2.52)	47.7 (36.8-61.9)	1.82 (1.37-2.69)
2	2.44 (1.72-3.47)	1.54 (1.33-1.84)	54.3 (27.9-10.6)	3.27 (1.70-41.03)
3	2.94 (2.69-3.21)	2.09 (1.54-3.26)	76.4 (64.6-90.4)	1.66 (1.48-1.87)
4	2.87 (2.67-3.08)	3.65 (2.75-5.46)	68.9 (60.3-78.8)	1.81 (1.49-2.31)
5	3.30 (3.06-3.57)	3.67 (2.89-5.00)	93.1 (80.3-10.8)	1.65 (1.18-2.74)
6	2.87 (2.78-2.96)	2.61 (2.08-3.51)	67.4 (63.6-71.5)	2.51 (1.96-3.51)
7	2.72 (2.33-3.17)	2.31 (1.91-2.93)	63.2 (47.2-84.7)	1.75 (1.57-1.97)
ค่าเฉลี่ย (110-90% LA) \pm SD	2.47 \pm 0.47	2.52 \pm 0.85	54.4 \pm 18.1	2.07 \pm 0.61

การวิจารณ์ผลและการสรุปผล

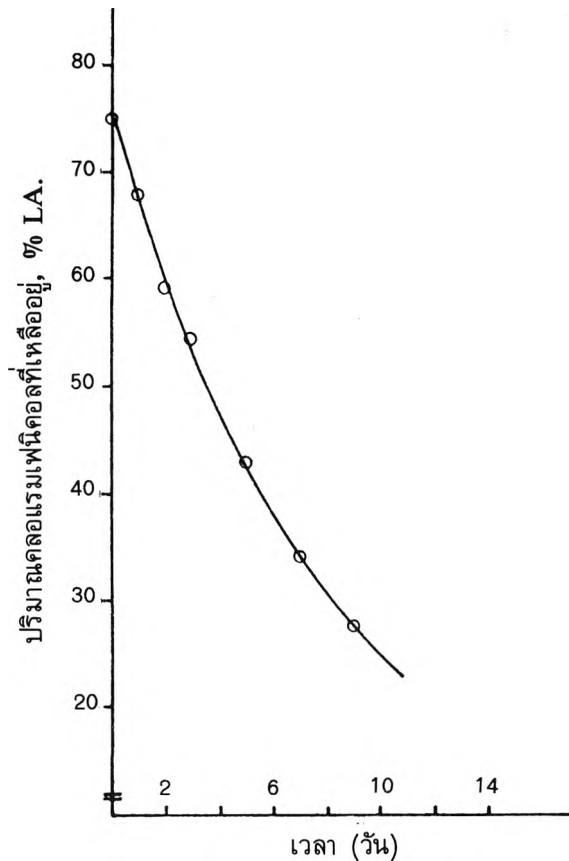
วิธี HPLC ที่ใช้นี้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณคลอแรมเฟนิคอลได้ โดยสารที่สลายตัวไม่รบกวนตั้งโครมาโตแกรมในรูปที่ 1 ซึ่งแสดงว่าคลอแรมเฟนิคอลมีเวลารีเทนชันที่ 2.42 นาที ในขณะที่สารสลายตัวไม่มีพีคที่เวลา 2.42 นาที ดังนั้นวิธีนี้จึงเหมาะสมที่ได้ใช้ศึกษาความคงตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตาได้



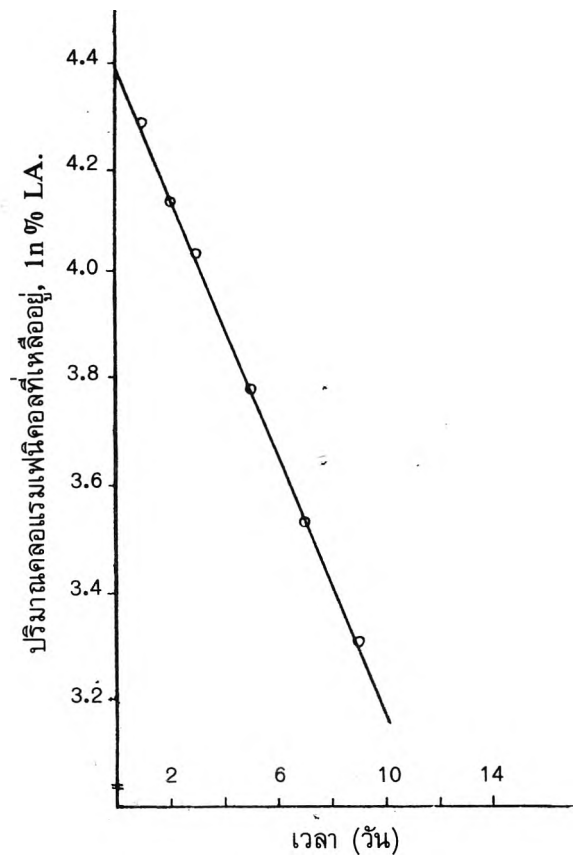
รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของคลอแรมเฟนิคอลและสารสลายตัวหลังจากการต้มในหม้อน้ำเดือด, (1) คลอแรมเฟนิคอล เวลารีเทนชัน 2.42 นาที, (2) คลอแรมเฟนิคอลและสารสลายตัว, (3) สารสลายตัว

ในการศึกษาเคมีจลนศาสตร์ของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณคลอแรมเฟนิคอลที่เหลืออยู่ ภายหลังจากการทำให้ยานั้นสลายตัวแล้วเป็นวิธีที่ดีกว่าการวิเคราะห์หาปริมาณสารสลายตัว ทั้งนี้เนื่องจากคลอแรมเฟนิคอลสลายตัวได้หลายปฏิกิริยา เช่น เอไมด์ไฮโดรลิซิส (3), คลอไรด์ไฮโดรลิซิส (3), ออกซิเดชัน-รีดักชัน (4), และการสลายตัวด้วยแสง (5) จึงทำให้มีสารสลายตัวหลายชนิด ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณสารสลายตัวเพียงสารใดสารหนึ่ง ย่อมไม่สามารถแสดงถึงสภาพความคงตัวที่แท้จริงของคลอแรมเฟนิคอลได้ (6)

อันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของยาตาคลอแรมเฟนิคอลได้จากการพิจารณาลักษณะกราฟการสลายตัว เปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอล, %LA. กับเวลา, วัน) กับปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอการิทึมของปริมาณการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอล, $\ln\%LA.$ กับเวลา, วัน) ดังแสดงเป็นตัวอย่างในรูปที่ 2, 3 ตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ว่าการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง



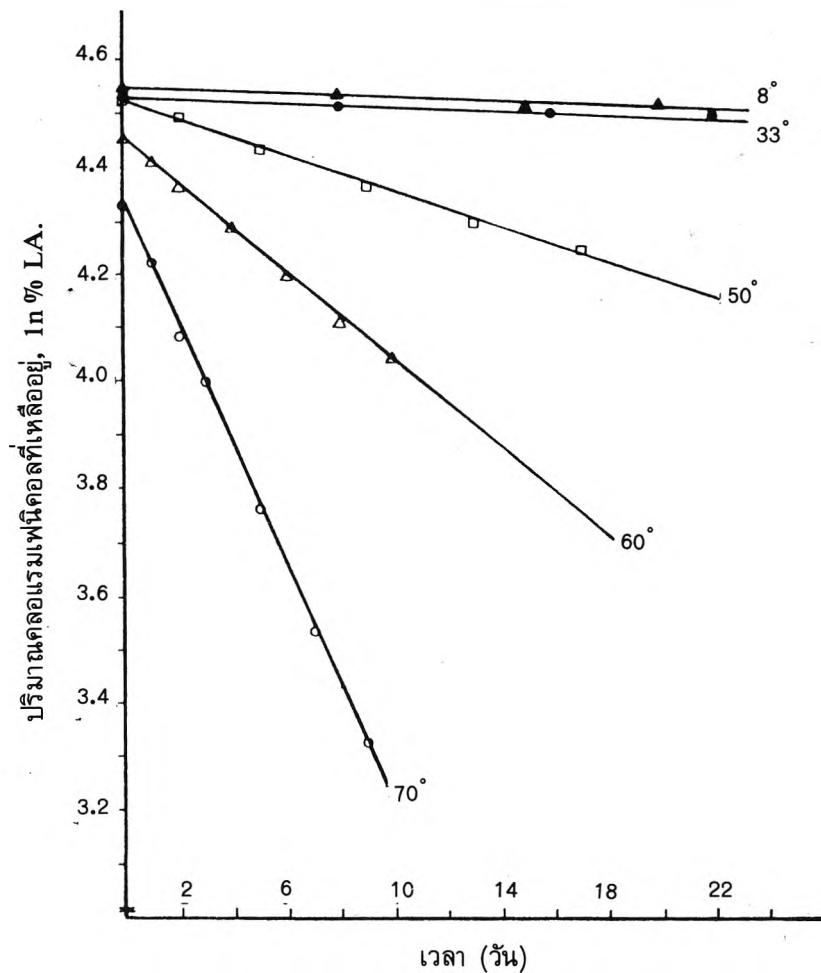
รูปที่ 2 แสดงปฏิกิริยาการสลายตัวอันดับศูนย์ของคลอแรมเฟนิคอลในยาหยอดตาตำรับที่ 1 ที่อุณหภูมิ 70°ซ.



รูปที่ 3 แสดงปฏิกิริยาการสลายตัวอันดับหนึ่งของคลอแรมเฟนิคอลในยาหยอดตาตำรับที่ 1 ที่อุณหภูมิ 70°ซ.

อันดับปฏิกิริยาการสลายตัว นอกจากจะหาโดยวิธีกราฟแล้ว ยังสามารถคำนวณได้โดยวิธี Least Squares โดยเปรียบเทียบค่าสหสัมพันธ์ ซึ่งพบว่าปฏิกิริยาอันดับหนึ่งมีสหสัมพันธ์มากกว่าปฏิกิริยาอันดับศูนย์ ในการวิจัยครั้งนี้พบว่า การสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตาทั้ง 7 ตำรับที่อุณหภูมิ 70, 60, 50 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง และที่อุณหภูมิในตู้เย็นส่วนใหญ่ก็เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง มีเพียง 2 ตำรับที่พบว่าปฏิกิริยาอันดับศูนย์มีสหสัมพันธ์มากกว่าอันดับหนึ่งเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการทดลองสั้นเกินไป ทำให้การแยกความแตกต่างระหว่างปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง กับอันดับศูนย์ในช่วงต้น ๆ ของการสลายตัวไม่ชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามต้องถือว่า การสลายตัวของคลอแรม

เฟนิคอลที่อุณหภูมิในตู้เย็นเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งด้วย เพื่อให้สอดคล้องกับที่อุณหภูมิอื่น ๆ ดังนั้นจึงอนุมานว่า การสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาหยาตาดำเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Higuchi, T. และคณะฯ (6) และที่อุณหภูมิสูงตัวยามีการสลายตัวมาก จึงเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจน ทำให้มีค่าเบี่ยงเบนน้อย ดังแสดงเป็นตัวอย่างในรูปที่ 4 ส่วนที่อุณหภูมิห้องนั้น พบว่าในฤดูร้อนอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงมาก ตั้งแต่ 30-35 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 33) และที่อุณหภูมิในตู้เย็น ประมาณ 8 องศาเซลเซียส การสลายตัวของยาเห็นได้ไม่ชัดเจน และมีค่าเบี่ยงเบนมาก เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการทดลองน้อยเกินไปและจำนวนครั้งในการทดลองก็น้อยเกินไปด้วย ดังได้แสดงค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Sk) ในตารางที่ 1

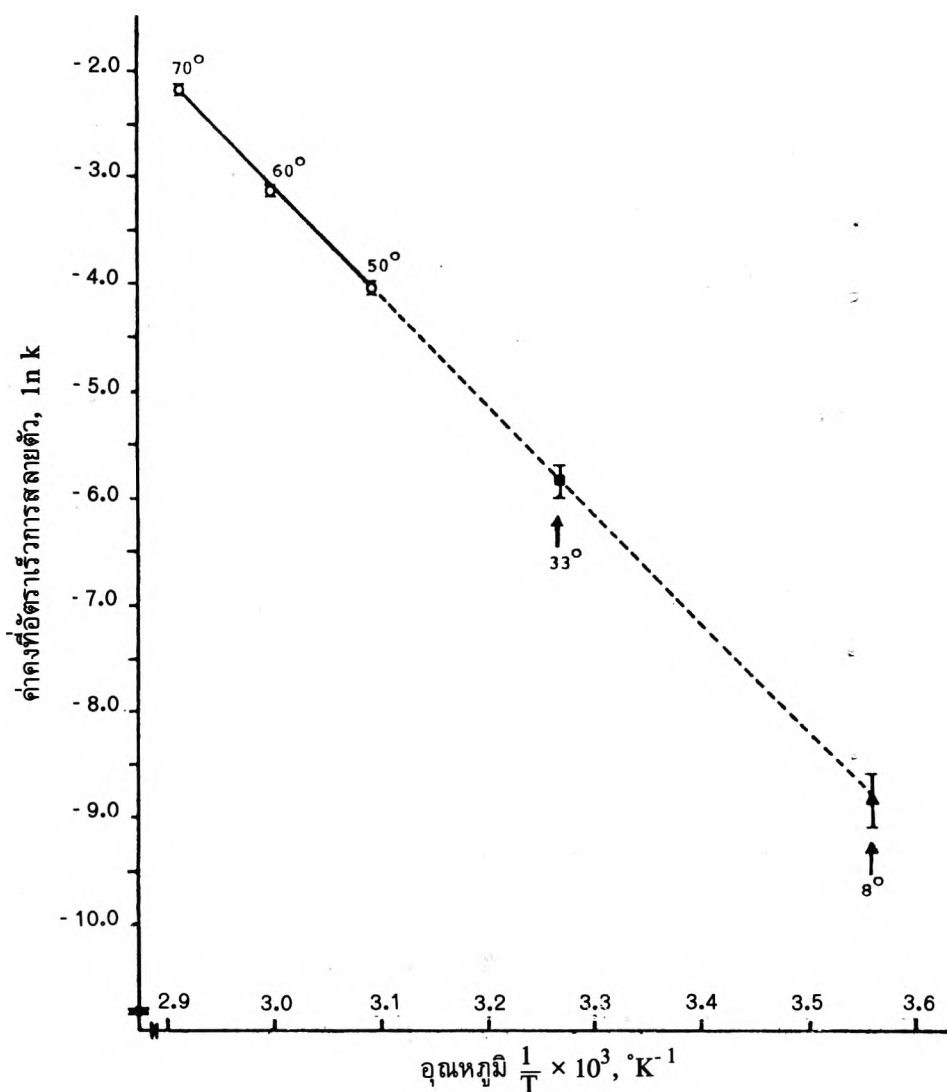


รูปที่ 4 แสดงการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาหยาตาดำรูปที่ 1 เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งที่อุณหภูมิต่าง ๆ ○, 70°; △, 60°; □, 50°; ●, 33°; และ ▲, 8°ซ.

ความสัมพันธ์อาร์รี่เนียส ระหว่างค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลที่ 70, 60 และ 50 องศาเซลเซียส กับส่วนกลับของอุณหภูมิองศาเคลวิน ซึ่งคำนวณจากสมการอาร์รี่เนียส ดังนี้

$$\ln k = \ln A - \left(\frac{E_a}{R}\right) \cdot \frac{1}{T}$$

พบว่าได้เป็นเส้นตรง ดังแสดงเป็นตัวอย่างในรูปที่ 5 และตารางที่ 2 มีค่าสหสัมพันธ์, r^2 ตั้งแต่ 0.9883-0.9999 ซึ่งแสดงว่า ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวขึ้นกับอุณหภูมิและค่าความร้อนแฝงการกระตุ้น อยู่ระหว่าง 20-22 กิโลแคลอรี/โมล แสดงว่าการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในยาตา เป็นปฏิกิริยาเอไมด์ไฮโดรลิซิส (6) และค่าความร้อนแฝงการกระตุ้นที่อยู่ในช่วง 10-30 กิโลแคลอรี/โมล นั้นย่อมแสดงว่าการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลขึ้นกับอุณหภูมิ และสามารถศึกษาความคงตัวได้โดยใช้กระบวนการเร่งให้ยาสลายตัวด้วยความร้อน (accelerated thermodegradation process) (7-8) และจากเส้นตรงอาร์เรเนียส หรือสมการอาร์เรเนียสได้คาดการณ์ค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k) ที่อุณหภูมิห้อง (33 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิในตู้เย็น (8 องศาเซลเซียส) พร้อมกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการคาดการณ์ (Sk) ดังได้แสดงในตารางที่ 2 และตัวอย่างในรูปที่ 5



รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์อาร์เรเนียสของคลอแรมเฟนิคอลในยาหยอดตาตัวรับที่ 1, คาดการณ์ไปที่ ■, 33°ซ.; ▲, 8°ซ.; เส้นในแนวตั้งคือ ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อายุการใช้ยาเป็นเวลาที่ใช้ในการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอล จากเกณฑ์สูงสุดที่ BPC 1973 กำหนดให้ คือ 110.0%LA. สลายตัวจนเหลือเกณฑ์ต่ำสุดคือ 90.0%LA. โดยคำนวณจากปฏิกิริยาการสลายตัวอันดับหนึ่ง ดังนี้

$$t(110-90\% \text{ LA.}) = (\ln 110 - \ln 90) / k$$

k เป็นค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวที่ได้จากการคาดการณ์ และที่ได้จากสภาพจริง ทั้งที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิในตู้เย็น ซึ่งอายุการใช้ยาของยาตาทุกตำรับได้แสดงในตารางที่ 3 ซึ่งพบว่า อายุการใช้ยาของยาตาคลอแรมเฟนิคอลทุกตำรับที่ได้จากการคาดการณ์ไปที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส มีค่าตั้งแต่ 2.35-3.30 เดือน ในการคำนวณอายุการใช้ยาที่ได้จากการคาดการณ์นั้น นิยมใช้ค่าเวลาที่สั้นที่สุด (9) ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัย และลดความเสี่ยงในการใช้ยาให้น้อยที่สุด นั่นคือให้ใช้ค่าต่ำสุดจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 1.72-3.06 เดือน (เฉลี่ย 2.47 ± 0.47) ส่วนอายุการใช้ยาของยาตาคลอแรมเฟนิคอลทุกตำรับที่อุณหภูมิห้องตามสภาพจริง มีค่าตั้งแต่ 1.54-3.67 เดือน (เฉลี่ย 2.52 ± 0.85) ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากสภาพจริงนั้นมีช่วงกว้างมากกว่าค่าที่ได้จากการคาดการณ์ ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองน้อยเกินไป แต่อย่างไรก็ตามอายุการใช้ยาที่อุณหภูมิห้องซึ่งได้จากการคาดการณ์และที่ได้จากสภาพจริงนั้น มีค่าไม่แตกต่างกันในช่วงที่มีความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งสรุปได้ว่ามีระยะเวลาประมาณ 2.5 เดือน และค่านี้ได้สอดคล้องกับรายงานของ Brunzell (10) แต่ค่าที่ได้นี้แตกต่างจากอายุการใช้ยาที่ BPC 1973 กำหนดให้เป็น 4 เดือน ที่ 25 องศาเซลเซียส

อายุการใช้ยา ของยาตาคลอแรมเฟนิคอลทุกตำรับ ที่อุณหภูมิในตู้เย็นซึ่งได้จากการคาดการณ์ที่ 8 องศาเซลเซียส มีค่าตั้งแต่ 47.7-93.1 เดือน โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 27.9-107 เดือน และเมื่อใช้ค่าต่ำสุดของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จึงมีค่าตั้งแต่ 27.9-80.3 เดือน (เฉลี่ย 54.4 ± 18.1) ส่วนอายุการใช้ยาที่อุณหภูมิในตู้เย็นที่ได้จากสภาพจริง มีค่าตั้งแต่ 1.75-3.27 เดือน (เฉลี่ย 2.07 ± 0.61) จะเห็นได้ว่าอายุการใช้ยาที่อุณหภูมิในตู้เย็น ซึ่งได้จากการคาดการณ์ และที่ได้จากสภาพจริงมีค่าแตกต่างกันมาก โดยค่าที่ได้จากสภาพจริงนั้นไม่น่าเชื่อถือเพราะมีระยะเวลาสั้นกว่าอายุการใช้ยาที่อุณหภูมิห้อง ความผิดพลาดในครั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะเวลาในการทดลองสั้นเกินไป นอกจากนี้อายุการใช้ยาทั้งสองวิธีนี้ยังแตกต่างจากอายุการใช้ยาที่ BPC 1973 กำหนดเป็น 18 เดือน ดังนั้นอายุการใช้ยาที่อุณหภูมิในตู้เย็นยังเป็นค่าที่น่าสงสัยและควรที่จะศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ พบว่าเมื่อยาตาคลอแรมเฟนิคอลสลายตัว จะทำให้สารละลายมีสีเหลืองเข้มขึ้น และพีเอชจะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากคลอแรมเฟนิคอลไฮโดรไลซ์แล้วเกิดเป็นกรดคลอโรอะซิติกและเป็นกรดไฮโดรคลอริก

เอกสารอ้างอิง

- 1) *British Pharmaceutical Codex 1973*, The Pharmaceutical Press, London, 687, 689-690 (1973).
- 2) ดวงสมร ลิ้มปิติ “การตรวจสอบคุณภาพของยาหยอดตาคลอแรมเฟนิคอลโดยวิธี HPLC”, *เชียงใหม่เภสัชสาร*, 2(1), 13-17 (2526)
- 3) Higuchi, T., and Bias, C.D., “The Kinetics of Degradation of Chloramphenicol in Solution I.A. Study of The Rate of Formation Chloride Ion in Aqueous Media.” *J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, 42, 707-714 (1953).
- 4) Shih, I.K., “Degradation Products of Chloramphenicol.” *J. Pharm. Sci.*, 60(5), 786-787 (1971).
- 5) Shih, I.K. “Photodegradation Products of Chloramphenicol in Aqueous Solution. “*J. Pharm. Sci.*, 60(12), 1889-1890 (1971)
- 6) Higuchi, T., Marcus, A.D., and Bias, C.D., “The Kinetics of Degradation of Chloramphenicol in Solution. II Over all Disapperarance Rate from Buffered Solutions. “*J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, 40, 129-134 (1954).
- 7) Laidler, K.J., *Chemical Kinetic*, 2nd. ed., Mc-Graw Hill. New York, 1961.
- 8) Lachman, L., Lieberman, H.A., and Kanic, J.L., *The Theory and Practical of Industrial Pharmacy*, 2nd. ed. , Lea and Febiger Philadelphia, (1976).
- 9) Wu-huang Yang., “Statistical Treatment of Stability Data” *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 7(1), 63-77 (1981).
- 10) *Martindale The Extra Pharmacopoeia*, 27th. ed., The Council of The Pharmaceutical Society of Great Britian, pp 1107-1113 (1976-1977).

STABILITY OF CHLORAMPHENICOL IN EYE DROPS

Suwanna Laungchonlatan MS. (in Pharm.)*

ABSTRACT

The Stability Testing Program was designed to assess the stability of chloramphenicol in 7 eye drops of marketed products by HPLC. The degradation of chloramphenicol in all formulations was found to be first order. The reaction rate at 70, 60, and 50 degree celcius of each product was correlated to temperature by Arrhenius relationship. The heat of activation of 7 eye drops fall in the range of 20-22 kcal/mole. The predicted rate at 33 degree celcius obtained from Arrhenius plot and the actual rate at room temperature storage (30-35 degree celcius) were not difference in the range of standard deviation. However the predicted rate at 8 degree celcius differed from the actual rate at refrigerator storage (8 degree celcius)

The shelf-life (t 110-90% LA.) of the 7 eye-drop preparations was predicted to be 1.72-3.06 months (average 2.47 ± 0.47) and the actual shelf-life was found to be 1.54-3.67 months (average 2.52 ± 0.85). The predicted and the actual shelf-life were not difference in the range of standard deviation. Conclusively the shelf-life of chloramphenicol eye drops at room temperature was found to be about 2.5 months which is shorter than the shelf-life specified by the BPC 1973 as 4 months at 25 degree celcius.

The predicted shelf-life of all products at 8 degree celcius was found to be 27.9-80.3 months (average 54.4 ± 18.1) and the actual shelf-life was 1.75-3.27 months (average 2.07 ± 0.61). Both the predicted and the actual shelf-life differed from the shelf-life specified by the BPC 1973 as 18 months at 2-8 degree celcius.

This Accelerated Stability Testing Program is found to be very useful and handy for accurate and rapid prediction the shelf-life of chloramphenicol eye drops at room temperature. (Th. J. Pharm. Sci. 11 (1), 1 – 13 (1986))

* Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.