

การศึกษาความคงสภาพของไฮโดรคลอโรไทอะไซด์ในรูปแบบยาเตรียมเฉพาะคราว
ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

STABILITY STUDY OF HYDROCHLOROTHIAZIDE IN EXTEMPORANEOUS PREPARATIONS
FROM THE QUEEN SIRIKIT NATIONAL INSTITUTE OF CHILD HEALTH

ชยานิด ศรชัยธวัชวงศ์^{1*}, วรณกุล เชื้อมงคล², นวภรณ์ วิมลสารวงศ์³, กิจจา สีห์โสภณ⁴ และ
ศรัณย์ สุดเจริญ⁵

¹สาขาวิชาเภสัชเคมี และ ²สาขาวิชาเภสัชกรรมคลินิก คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
นครนายก

³ฝ่ายเภสัชกรรม สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี, กรุงเทพมหานคร

⁴ฝ่ายขึ้นทะเบียนยา บริษัท บีซเวล มาร์เก็ตติ้ง จำกัด, สมุทรสาคร

⁵บริษัท บูทส์ รีเทล (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพมหานคร

*ติดต่อผู้พิมพ์ : chayanid@g.swu.ac.th

CHAYANID SORNCHAITHAWATWONG^{1*}, WANNAKON CHUEMONGKON²,

NAWAPORN VIMOLSARAWONG³, KIJJA SIHSOBHON⁴ AND SARAN SUDJAROEN⁵

¹Department of Pharmaceutical Chemistry and ²Department of Clinical Pharmacy, Faculty of
Pharmacy, Srinakharinwirot University, Nakhonnayok

³Department of Pharmacy, The Queen Sirikit National Institute of Child Health (QSNICH),
Bangkok

⁴Department of Regulatory affairs, Bizwell marketing Co.,Ltd, Samutsakhon

⁵Boots Retail (Thailand) Ltd, Bangkok

*Corresponding Author: chayanid@g.swu.ac.th

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบหาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราวไฮโดรคลอโร
ไทอะไซด์ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนความแรง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เก็บในขวดสีชาที่สภาวะ
อุณหภูมิต่าง ๆ โดยทดสอบความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีในสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ
ตู้เย็น (2-8 องศาเซลเซียส), อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิเร่ง (45 องศาเซลเซียส)
โดยทำการทดสอบในวันที่ 0, 7, 14, 28 และ 42 ความคงสภาพทางกายภาพประเมินจากสีของตำรับยา
และการกระจายตัวของผงยาเมื่อเขย่า ส่วนความคงสภาพทางเคมีพิจารณาจากค่าความเป็นกรด-ด่าง
และวิเคราะห์ร้อยละปริมาณตัวยาคงเหลือในตำรับยาด้วยวิธี reversed phase HPLC ผลการทดสอบ
ความคงสภาพทางกายภาพ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ทุกสภาวะของการทดสอบตลอด
ระยะเวลาที่ศึกษา ส่วนการทดสอบความคงสภาพทางเคมี พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-
ด่างของยาทุกสภาวะตลอดช่วงเวลาที่ใช้ทดสอบเช่นกัน สำหรับการวิเคราะห์ร้อยละปริมาณตัวยาคงเหลือ

คงเหลือในตำรับยาด้วยวิธี HPLC พบว่ายาคเตรียมเฉพาะคราวไฮโดรคลอโรไทอะไซด์ที่เก็บไว้ทั้งสามสภาวะ มีปริมาณตัวยาคงเหลืออยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 ตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ตลอดระยะเวลา 42 วันที่ศึกษา ดังนั้นยาคเตรียมเฉพาะคราวไฮโดรคลอโรไทอะไซด์รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนนี้ สามารถเก็บที่อุณหภูมิเร่งหรืออุณหภูมิห้องหรือตู้เย็นในขวดสีชาเป็นเวลา 42 วันโดยที่ยายังคงมีปริมาณตัวยาคสำคัญไม่ต่ำกว่า 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากข้อมูลนี้สามารถนำไปใช้ทางคลินิกเพื่อช่วยกำหนดอายุและสภาวะการเก็บรักษายาคเตรียมดังกล่าวเพื่อให้มีผลทางการรักษา

คำสำคัญ: ไฮโดรคลอโรไทอะไซด์, ยาคเตรียมเฉพาะคราว, ยาน้ำแขวนตะกอน, ความคงสภาพ

Abstract

The objective of this study was to evaluate the stability of extemporaneous preparations of hydrochlorothiazide (HCTZ) suspension 10 mg/ml in terms of both physical and chemical characteristics in light-resistant containers. All HCTZ suspensions were randomly sampled and stored at refrigerated temperature (2-8°C), room temperature (25-30°C) and accelerated temperature (45°C). The changes in physical characteristics such as color and reversible precipitation of suspensions were determined. The chemical characteristics were measured by pH value and the remaining drug contents (%remaining) analyzed using a reversed phase HPLC technique at the beginning and at 7, 14, 28 and 42 days. It was found that the physical characteristics of the HCTZ extemporaneous preparations were unchanged in all conditions. The pH value was unchanged in all conditions after being kept for 42 days. This study found that the %remaining of HCTZ suspensions and the amounts of HCTZ in all conditions were in the acceptable range (90-110% of initial content and not less than 9 mg/ml, respectively) and were not less than 9 mg/ml after 42 days. Thus the HCTZ extemporaneous preparations could be kept at accelerated temperature (45°C) or room temperature (25-30°C) or refrigerated temperature (2-8°C) in light-resistant containers for 42 days with no significant change. This information would be clinically useful to determine the optimum shelf life and storage of HCTZ extemporaneous suspension.

Keywords: hydrochlorothiazide (HCTZ), extemporaneous preparations, suspensions, stability

บทนำ

ในประเทศไทยมีการเตรียมยาคเตรียมเฉพาะคราว (extemporaneous preparations) ในรูปแบบยาน้ำขึ้นเพื่อใช้ในโรงพยาบาลสำหรับผู้ป่วยเด็กเป็นจำนวนมาก เนื่องจากยาบางชนิดไม่มีจำหน่ายในรูปแบบยาน้ำสำหรับเด็ก และ

ปัญหาที่เกิดขึ้นในการเตรียมยาคเตรียมเฉพาะคราวในรูปแบบยาน้ำ คือ ข้อมูลความคงสภาพของตำรับยาคเตรียมเฉพาะคราวที่เตรียมขึ้น โดยยาคเตรียมเฉพาะคราวอาจเกิดการเสื่อมสลายของตัวยาคสำคัญทำให้ตัวยาคสำคัญมีปริมาณลดลง ส่งผลให้ผู้ป่วยเด็กได้รับยาไม่ครบตาม

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินีที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

วิธีการศึกษา

ยาและสารเคมี

สารมาตรฐาน hydrochlorothiazide (HCTZ) (Sigma Aldrich[®], USA), sodium dihydrogenorthophosphate (NaH₂PO₄.2H₂O) (Univar[®], Australia), acetonitrile HPLC grade (RCI LAB SCAN[®], Thailand) ยาเม็ด hydrochlorothiazide (HCTZ GPO[®]) ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อเม็ด และน้ำกระสายยาสูตร 3 ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี สำหรับตำรับยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

High performance liquid chromatography (HPLC) with autosampler (Spectra SYMTEM[®] รุ่น AS3000 ของบริษัท Thermo separation product, USA), Detector (Spectra SYMTEM[®] รุ่น UV 1000 ของบริษัท Thermo separation product, USA), column (Thermo[®] BDS Hypersil C18, 250 mm x 4.60 mm, 5 µm, USA), hot air oven (Contherm[®], New Zealand), ตู้เย็น (National[®] รุ่น NR-b53d1, Thailand), เครื่อง ultrapure water (MAXIMA[®], England), เครื่องชั่ง (Satorius[®], รุ่น AC2115, Germany), pH meter (ORION[®] model 320, USA)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ HCTZ

1. เตรียม standard stock solution ของ HCTZ ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/

มิลลิลิตร แล้วปิเปตมา 400 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย mobile phase ใน volumetric flask 10 มิลลิลิตรได้ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

2. เตรียม phosphate buffer pH 3 โดยชั่งสาร disodium hydrogen orthophosphate ปริมาณ 1.56 กรัม ละลายด้วย ultrapure water แล้วปรับ pH ด้วย กรด H₃PO₄ และ NaOH จนได้ pH 3

3. ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ mobile phase คือ phosphate buffer pH 3 : acetonitrile เท่ากับ 60:40, 70:30 และ 80:20

การศึกษา system suitability⁵

เตรียมสารละลายมาตรฐาน HCTZ 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยฉีดซ้ำจำนวน 6 ครั้ง คำนวณค่า plate number (N), capacity factor (k'), tailing factor และ %relative standard deviation (%RSD) ของ peak area (PA) และ retention time (t_R) โดยค่าที่ยอมรับได้ของ plate number (N) ควรมีค่ามากกว่า 2000, capacity factor (k') ควรมีค่าอยู่ในช่วง 2-20, tailing factor ควรมีค่าน้อยกว่า 2 และ %relative standard deviation (%RSD) ของ peak area (PA) และ retention time (t_R) ควรมีค่าน้อยกว่า 1%

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)⁶

1. ความเฉพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (specificity) โดยวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน HCTZ เทียบกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในน้ำกระสายยาว่าสามารถแยกออกจากกันได้โดยวิธี HPLC

2. ความสัมพันธ์อย่างเป็นเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ (linearity and range) โดยเจือจาง standard stock solution ของ HCTZ (50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จนได้ความเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยทำการเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง peak area และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน HCTZ โดยค่า R^2 ควรมากกว่า 0.9995

3. ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ (intra-day precision and inter-day precision)

- intra-day precision วิเคราะห์สารละลาย HCTZ ความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และคำนวณค่า %RSD ค่าที่ยอมรับได้คือ %RSD ควรน้อยกว่า 2%

- inter-day precision วิเคราะห์สารละลาย HCTZ ความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 วัน และคำนวณ %RSD ค่าที่ยอมรับได้คือ %RSD ควรน้อยกว่า 2%

4. ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) นำสารละลาย HCTZ ความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วย HPLC โดยทำการเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และคำนวณ %recovery โดยเกณฑ์มาตรฐานควรอยู่ในช่วง 98%-102%

5. ปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ) เจือจางความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน HCTZ แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC แล้วพิจารณาความเข้มข้นที่ให้ค่า signal-to-noise เท่ากับ 10:1

การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ

1. การเตรียมยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (ความแรง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เตรียมโดยการบดเม็ดยา HCTZ 50 มิลลิกรัม จำนวน 6 เม็ด ใส่ในขวดสีชา เติมน้ำกระสายยาสูตร 3 ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินีจนมีปริมาตรครบ 30 มิลลิลิตร โดยสูตรตำรับของน้ำกระสายยาสูตร 3 เป็นดังนี้

สูตรตำรับของน้ำกระสายยาสูตร 3 ของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

water	2	มิลลิลิตร
syrup qs to	100	มิลลิลิตร
adjust to pH 3-4 with citric acid		

2. สภาวะที่ใช้ในการทดสอบความคงสภาพ

นำขวดยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เก็บที่สภาวะอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 อุณหภูมิ วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ ได้แก่ อุณหภูมิตู้เย็น (2-8°C), อุณหภูมิห้อง (25-30°C) และอุณหภูมิเร่ง (45°C) สภาวะละ 3 ตัวอย่างโดยวันที่ผสมยานับเป็นวันแรก (day 0)

3. การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน โดยความคงสภาพทางกายภาพพิจารณาจากการสังเกตสีและการกระจายตัวของผงยาเมื่อเขย่า ส่วนความคงสภาพทางเคมีพิจารณาจากค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวิเคราะห์ร้อยละปริมาณยาคงเหลือ (%remaining)

โดยทดสอบวันที่ 7, 14, 28 และ 42 ของการเก็บยาเทียบกับวันแรก

4. การวิเคราะห์หาร้อยละปริมาณยา HCTZ ที่คงเหลือ (%remaining)

นำยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนมาเขย่าเพื่อให้ผงยากระจายตัวได้ดี แล้วจึงปิเปตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย mobile phase จนครบ (200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) จากนั้นปิเปตสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม mobile phase ประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไป sonicate ปรับปริมาตรด้วย mobile phase จนครบ (20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นำไปกรองผ่าน 0.45 μ m nylon syringe filter แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย reversed phase HPLC โดยทำสภาวะละ 3 ตัวอย่าง คำนวณหาปริมาณด้วยยาสำคัญที่เหลือในวันที่ 7, 14, 28 และ 42 โดยจะต้องไม่ต่ำกว่า 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และร้อยละปริมาณยา HCTZ ที่คงเหลือ (%remaining) ของการเก็บยาเทียบกับวันแรก โดยค่าที่ยอมรับได้ควรอยู่ในช่วง 90-110% ของปริมาณยาเริ่มต้น⁵

การวิเคราะห์ข้อมูลและการนำเสนอข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา สำหรับผลลัพธ์การศึกษาต่าง ๆ แสดงในรูปร้อยละ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สำหรับการศึกษา system suitability และ method validation จะวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้โดยเปรียบเทียบกับมาตรฐานตามเกณฑ์ The USP 36 & NF 31, 2013 และ ICH 1996 ตามลำดับ

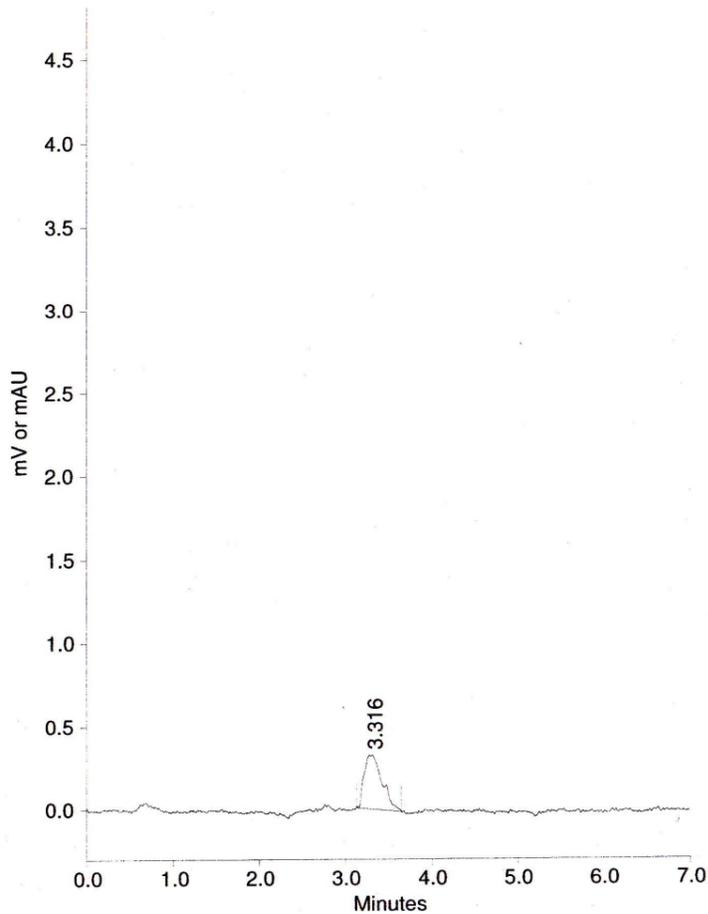
ผลการศึกษา

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ยา HCTZ

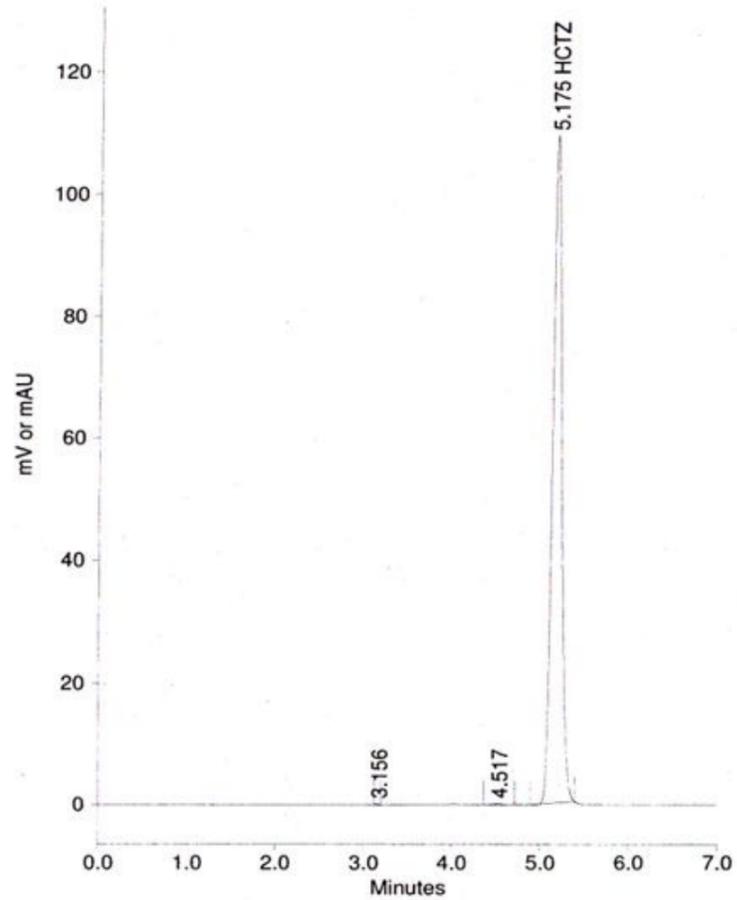
ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค reversed phase HPLC นี้ พบว่าอัตราส่วน mobile phase ที่ทำให้ peak ของ HCTZ แยกกับพีคของเฟสเคลื่อนที่ได้ดี คือ อัตราส่วน 80 : 20 (phosphate buffer pH 3 : acetonitrile) นอกจากนี้ยังมีค่า tailing factor เท่ากับ 1.118 ซึ่งน้อยกว่า 2 และค่า capacity factor เท่ากับ 9.754 ซึ่งอยู่ในช่วง 2-20 (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2) โดยใช้ stationary phase เป็น C18 (250 mm x 4.60 mm, 5 μ m) ใช้อัตราเร็ว 1.0 mL/min, injection volume 10 μ L และ UV detector ที่ 271 nm

ตารางที่ 1 พารามิเตอร์ต่าง ๆ จากการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ mobile phase (n=3)

mobile phase buffer pH3 :acetonitrile	retention time (t_R) (min)	K'	tailing factor
60 : 40	3.340 \pm 0.000	5.693 \pm 0.002	1.225 \pm 0.004
70 : 30	3.862 \pm 0.002	6.728 \pm 0.007	1.192 \pm 0.005
80 : 20	5.175 \pm 0.005	9.754 \pm 0.009	1.118 \pm 0.001



ก) น้ำกระสายยา



ข) ยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ

ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของ ก) น้ำกระสายยา ข) ยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ

การศึกษา System suitability

ระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสม ดังผลในตารางที่ 2 โดยมีค่า % RSD ของ retention time และ peak area ของสารมาตรฐาน HCTZ เท่ากับ 0.09 และ 0.30 ตามลำดับซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 ส่วนค่า tailing factor และ plate number เท่ากับ 1.118 ±

0.001 และ 8209.503 ± 47.180 ตามลำดับ และมีค่า capacity factor (k') เท่ากับ 9.754 ± 0.009 ซึ่งเป็นค่ายอมรับได้ตามเกณฑ์ คือ อยู่ในช่วง 2-20 (ตารางที่ 2) แสดงว่าระบบในการวิเคราะห์ และคอลัมน์ที่ใช้ในการทดลองมีประสิทธิภาพ เหมาะสมสำหรับการทดลองนี้

ตารางที่ 2 ผลที่ได้จากการศึกษา system suitability (n=6)

parameters	results (mean ± SD)	% RSD
plate number (N)	8209.503 ± 47.180	-
capacity factor (k')	9.754 ± 0.009	-
tailing factor	1.118 ± 0.001	-
retention time	5.175 ± 0.005	0.09
peak area	755083.721 ± 2289.881	0.30

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

1. Specificity วิธีการวิเคราะห์มีความเฉพาะเจาะจง เนื่องจาก HCTZ สามารถแยกออกจากส่วนประกอบอื่น ๆ ในน้ำกระสายยาได้ โดยมี retention time เท่ากับ 5.175 นาที (ภาพที่ 2)

2. Linearity and range แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน HCTZ กับ peak area โดยมีสมการมาตรฐาน คือ $y = 38588x - 12351$ และ linearity ของ HCTZ อยู่ในช่วง 5-40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (5 ความเข้มข้น) โดยมีค่า $R^2 = 0.9999$

3. Precision แสดงความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ รายงานผลออกมาในรูป RSD ดัง

ตารางที่ 3 จากการวิเคราะห์พบว่า %RSD ของ HCTZ มี intra-day precision และ inter-day precision น้อยกว่า 2% ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ แสดงว่าวิธีที่ใช้ในการศึกษามีความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์

4. Accuracy จากการศึกษาค้นพบว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้มีความแม่นยำเนื่องจากมี % recovery ของ HCTZ อยู่ในช่วง 98-102% (ตารางที่ 4)

5. Limit of quantitation (LOQ) แสดงปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ เท่ากับ 3.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีค่า signal to noise ratio เป็น 10:1

ตารางที่ 3 ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ที่แสดงในรูป %RSD ของ HCTZ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (n=3)

ความเข้มข้นของ HCTZ (µg/ml)	%RSD	
	intra-day precision	inter-day precision
5	1.17	1.15
20	0.72	1.39
40	0.15	0.50

ตารางที่ 4 %recovery จากการวิเคราะห์ HCTZ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (n=3)

ความเข้มข้นของ HCTZ (µg/ml)	ความเข้มข้นที่วัดได้ (µg/mL) mean ± SD	%recovery
5	5.02 ± 0.06	100.80
20	19.35 ± 0.14	99.12
40	39.46 ± 0.06	101.06

การทดสอบความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ

จากการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพ โดยสังเกตสีและการกระจายตัวของผงยา ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ทุก

สภาวะของการทดสอบตลอดระยะเวลาที่ศึกษา ส่วนการทดสอบความคงสภาพทางเคมี เมื่อพิจารณาจากค่า pH ของยาพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง pH ของยาทุกสภาวะตลอดช่วงเวลาที่ใช้ทดสอบเช่นกัน ดังตารางที่ 5

เมื่อนำตัวอย่างยาเตรียมเฉพาคราว HCTZ รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน (10 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร) ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ และระยะเวลาที่แตกต่างกันมาวิเคราะห์หาปริมาณตัวยา สำคัญที่เหลือและ %remaining เทียบกับวัน แรก แสดงดังตารางที่ 6 พบว่าปริมาณตัวยา สำคัญที่เหลือของ HCTZ รูปแบบยาน้ำแขวน ตะกอนที่เก็บที่อุณหภูมิแรง (45°C) เก็บที่

อุณหภูมิห้อง (25-30°C) และตู้เย็น (2-8°C) มี ค่าไม่ต่ำกว่า 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อคิดเป็น %remaining พบว่าอยู่ในช่วง 90-110% ตลอด ระยะเวลา 42 วันที่ทดสอบ แสดงว่ายาเตรียม เฉพาคราว HCTZ รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน สามารถเก็บที่อุณหภูมิแรงหรืออุณหภูมิห้องหรือ ตู้เย็น ได้เป็นเวลา 42 วัน โดยที่ยายังคงมีความ แรงแรงตามเกณฑ์

ตารางที่ 5 pH ของยาเตรียมเฉพาคราว HCTZ เมื่อเก็บที่สภาวะต่าง ๆ (n=3)

สภาวะ	sample	pH (mean ± SD)				
		วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 28	วันที่ 42
อุณหภูมิห้อง (25-30°C)	HCTZ suspension	3.64±0.03	3.85±0.06	3.85±0.01	3.86±0.06	3.85±0.02
	vehicle	3.50±0.01	3.69±0.03	3.80±0.01	3.80±0.05	3.72±0.03
ตู้เย็น (2-8°C)	HCTZ suspension	3.62±0.01	3.78±0.06	3.85±0.03	3.80±0.04	3.80±0.06
	vehicle	3.50±0.02	3.67±0.05	3.79±0.03	3.79±0.04	3.72±0.03
อุณหภูมิแรง (45°C)	HCTZ suspension	3.70±0.01	3.81±0.07	3.79±0.02	3.80±0.07	3.80±0.03
	vehicle	3.50±0.03	3.67±0.01	3.82±0.02	3.75±0.03	3.75±0.03

ตารางที่ 6 ปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และร้อยละปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือ (%remaining) ของยาเตรียมเฉพาคราว HCTZ เมื่อเก็บที่สภาวะต่าง ๆ (n=3)

สภาวะ	ปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือ; มิลลิกรัม/มิลลิลิตร* (ร้อยละปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือ; %remaining)*				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 28	วันที่ 42
อุณหภูมิห้อง (25-30°C)	10.12±0.05	9.96±0.14	9.81±0.10	9.65±0.15	10.11±0.13
	(100.00±0.00)	(98.38±1.34)	(96.94±1.01)	(95.36±1.47)	(99.92±1.24)
ตู้เย็น (2-8°C)	10.15±0.07	9.86±0.11	9.53±0.26	10.16±0.16	10.23±0.24
	(100.00±0.00)	(97.15±1.10)	(93.94±2.56)	(100.05±1.59)	(100.76±2.40)
อุณหภูมิแรง (45°C)	10.08±0.11	9.67±0.22	9.71±0.29	9.85±0.12	9.68±0.06
	(100.00±0.00)	(95.96±2.17)	(96.34±2.86)	(97.73±1.19)	(96.07±0.63)

หมายเหตุ *mean±SD

อภิปรายผลและสรุปผลการศึกษา

ผลการศึกษาความคงสภาพของยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนตั้งแต่วันแรกที่เตรียมจนถึงวันที่ 42 โดยมีการควบคุมสภาวะในการเก็บยาที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน พบว่าลักษณะทางกายภาพของตำรับยาไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกสภาวะ รวมถึงไม่พบการเปลี่ยนแปลง pH ของยาเตรียมเฉพาะคราวด้วย โดย pH ที่ HCTZ มีความคงตัวดีคือที่ pH 3-4⁷ และจากการวิจัยครั้งนี้พบว่าค่า pH ของยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ มีค่าอยู่ในช่วงดังกล่าวตลอดการทดสอบ (pH 3.62-3.86) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือด้วยเทคนิค HPLC พบว่ายาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (45°C) ที่อุณหภูมิห้อง (25-30°C) และที่อุณหภูมิต่ำ (2-8°C) มีปริมาณตัวยาสำคัญไม่ต่ำกว่า 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ตามเภสัชตำรับ และเมื่อนำมาคิดเป็นร้อยละปริมาณตัวยาสำคัญคงเหลือ (%remaining) มีค่าอยู่ในมาตรฐานช่วง 90-110% ของปริมาณยาเริ่มต้นหลังผสมยาแล้ว เป็นเวลา 42 วัน ซึ่งทั้งสองค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เมื่อพิจารณาปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลือ และ %remaining ของยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ที่เก็บที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่ามีความแปรปรวนของค่าทั้งสอง อาจเนื่องมาจากการกระจายตัวของตัวยาไม่สม่ำเสมอหลังจากการเขย่าในแต่ละครั้ง จึงทำให้เกิดความแปรปรวนของปริมาณยาเมื่อนำมาวิเคราะห์

การศึกษาของ Santovena และคณะ⁸ เกี่ยวกับความคงตัวของ HCTZ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนที่เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 5, 25, 40 และ 80°C เป็นเวลา 30 วันพบว่า HCTZ ใน

รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนมีความคงตัวดีที่อุณหภูมิ 5-40°C เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยไม่พบสารเสื่อมสลายเกิดขึ้น แต่ที่อุณหภูมิ 80°C เกิดการเสื่อมสลายขึ้นแม้จะเก็บไว้เพียง 1 วันก็ตาม ส่วนการศึกษาของ Mendes และคณะ⁹ เกี่ยวกับความคงตัวของ HCTZ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25±2°C) และตู้เย็น (5±3°C) เป็นเวลา 7 วัน พบว่าที่ pH >6.5 จะเกิดการเสื่อมสลายของตัวยา HCTZ ขึ้นจากปฏิกิริยา hydrolysis แต่เมื่อปรับ pH เป็น 3.3 พบว่า HCTZ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนมีความคงตัวดีตลอด 7 วัน ไม่พบสารเสื่อมสลายดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Junitta และคณะ¹⁰ เมื่อทดสอบยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ขนาด 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เก็บในภาชนะป้องกันแสง ที่อุณหภูมิ 5±3°C พบว่ายาเตรียมเฉพาะคราวดังกล่าวมีความคงสภาพทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีพที่ pH = 6 เป็นเวลา 30 วัน

นอกจากนี้ยังมีรายงานพบสารเสื่อมสลายในตำรับยาน้ำ HCTZ คือ chlorothiazide¹¹ และ 4-amino-6-chloro-1,3-benzenedisulfonamide¹² ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา hydrolysis ทั้งในสภาวะ acid hydrolysis, alkaline hydrolysis และ neutral hydrolysis นั้นแสดงว่า HCTZ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนสามารถเกิดการเสื่อมสลายได้ง่ายถ้ามีการเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลาย โดยเฉพาะที่ pH >6.5 และที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้เนื่องจาก pH มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากอยู่ในช่วง 3.62-3.85 ตลอดระยะเวลา 42 วัน และสภาวะการเก็บไม่เกิน 45°C ทำให้ยาน้ำแขวนตะกอน HCTZ ยังมีความคงตัวดี ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ายาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ที่เตรียมขึ้นจากสูตร

ตำรับของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี มีความคงตัวนานถึง 42 วัน ในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เกิน 45°C โดยที่ยายังคงมีความแรงตามเกณฑ์

การวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิก เพื่อช่วยกำหนดอายุและการเก็บรักษา ยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ในรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน เพื่อให้ข้อมูลในการเก็บรักษา ยาของผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้ยังช่วยให้เภสัชกรประจำโรงพยาบาลสามารถบริหารจัดการยาให้ผู้ป่วยได้ง่ายขึ้นและวางแผนการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามควรมีการทดสอบความคงสภาพทางจุลชีพ (micro biological stability) เพื่อยืนยันความปลอดภัยในการใช้ยาดังกล่าว โดยจากเภสัชตำรับ (USP 36 & NF 31) ระบุผลิตภัณฑ์ยาเตรียมไม่ปราศจากเชื้อ ประเภทยาน้ำชนิดรับประทานควรมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 200 CFU/ml และไม่พบเชื้อ *Escherichai coli*⁵ และจากการศึกษาของฐนิตาและคณะ¹⁰ พบว่ายาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ที่เก็บไว้ที่ 5±3°C มีความคงสภาพทางจุลชีพ เป็นเวลา 30 วัน โดยมีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในปริมาณที่น้อยกว่า 200 CFU/ml และไม่พบเชื้อ *E.coli* ดังนั้นควรแนะนำให้ผู้ป่วยเก็บยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ ไว้ในตู้เย็นเพื่อความปลอดภัยในการใช้ยา นอกจากนี้ อาจศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความคงสภาพของ ยาเม็ด HCTZ ที่ถูกบดว่ามีความคงสภาพนานเพียงใดเทียบกับ HCTZ ในน้ำกระสายยา เพื่อให้ทราบว่าควรจ่ายยาเป็นรูปแบบผงยากู่กับน้ำกระสายยา หรือรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนให้ผู้ป่วย เพื่อช่วยลดความถี่ในการเดินทางมารับยาของผู้ป่วยโดยที่ยาดังกล่าว ยังคงมีความแรงตามเกณฑ์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ให้การสนับสนุน สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการและเครื่อง HPLC และขอขอบคุณกลุ่มงานเภสัชกรรม สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำกระสายยาสูตร 3 สำหรับเตรียมยาเตรียมเฉพาะคราว HCTZ

เอกสารอ้างอิง

1. Viriyaroj A. Extemporaneous oral liquid preparations. Thai Pharm Health Sci J. 2007;2:320-6.
2. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Rang and Dale's pharmacology. 6th ed. Churchill Livingstone Elsevier;2007.
3. Dechavas W, Wimolsarawong N, Ingcharoensunthorn P, editors. Pediatric extemporaneous compounding. Bangkok: The Queen Sirikit National Institute of Child Health; 2009.
4. Mahajan AA, Thaker AK, Mohanraj K. LC, LC-MS/MS studies for the identification and characterization of degradation products of hydrochloro thiazide and establishment of mechanistic approach towards degradation. J Braz Chem Soc. 2012;23(3):445-52.
5. The United States Pharmacopeia (USP) 36 and The National Formulary (NF) 31, Asian edition Volume 2. Rockville: USP Convention Inc;2013.
6. International Conference on Harmonisation (ICH) expert working

- group. ICH harmonized tripartite guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). Commission of the European Communities;1996.
7. Connors KA, Amidon GL, Stella VJ. Chemical stability of pharmaceuticals: a handbook for pharmacists. Canada: John Wiley & Sons Inc;1986.p.478-82.
 8. Santoveña A, Hernández-Paiz Z, Fariña JB. Design of a pediatric oral formulation with a low proportion of hydrochlorothiazide. *Int J Pharmaceut.* 2012;423(2):360-4.
 9. Mendes C, Costa AP, Oliveira PR, Tagliari MP, Silva MA. Physicochemical and microbiological stability studies of extemporaneous antihypertensive pediatric suspensions for hospital use. *Pharm Dev Technol.* 2013;18(4):813-20.
 10. Thaweethamcharoen T, Tummarintra P, Komesmuneeborirak P, Noparatayaporn P. Stability test in extemporaneous preparations: furosemide syrup, spironolactone suspension and hydrochlorothiazide suspension. *Siriraj Med J.* 2014;66(1):15-20.
 11. Tagliari MP, Stulzer HK, Murakami FS, Kuminek G, Valent B, Oliveira PR, et al. Development and validation of a stability-indicating LC method to quantify hydrochlorothiazide in oral suspension for pediatric use. *Chromatographia.* 2008;67:647-52.
 12. Tagliari MP, Stulzer HK, Assreuy J, Bresolin TMB, Silva MAS. Evaluation of physicochemical characteristics of suspensions containing hydrochlorothiazide developed for pediatric use. *Lat Am J pharm.* 2009;28(5):734-40.