

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่ใช้มอนอลิทคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์
ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์พร้อมกันในรูปแบบยาพ่นจมูก

High-Performance Liquid Chromatography Using Monolithic Column for
Simultaneous Determination of Oxymetazoline Hydrochloride and
Xylometazoline Hydrochloride in Nasal Spray Formulations

มนัสวี จันรอด¹ และ สมศักดิ์ ศิริไชย^{2*}

Manassawee Janrod¹ and Somsak Sirichai^{2*}

Received: April 21, 2025

Revised: May 26, 2025

Accepted: June 5, 2025

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่ง่ายและรวดเร็วสำหรับการหาปริมาณออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์พร้อมกันในรูปแบบยาพ่นจมูก การแยกเกิดบนมอนอลิทคอลัมน์ (C₁₈, 100 มิลลิเมตร x 4.6 มิลลิเมตร) ของผสมของอะซิโตไนไตรล์ (ร้อยละ 28 โดยปริมาตร) และสารละลายกรดฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 0.01 (ร้อยละ 72 โดยปริมาตร) ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมด้วยอัตราการไหลที่ 2.50 มิลลิเมตรต่อนาที สารที่ต้องการวิเคราะห์ตรวจวัดที่ 220 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์แยกอย่างสมบูรณ์ภายใน 2 นาที กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์

¹อาจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา บางแสน อำเภอมือ จังหวัดชลบุรี 20131 ประเทศไทย
Lecturer, Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University, Bangsaen, Muang, Chonburi, 20131, Thailand
E-Mail: manassawee.ja@buu.ac.th

^{2*}ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา บางแสน อำเภอมือ จังหวัดชลบุรี 20131 ประเทศไทย
Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University, Bangsaen, Muang, Chonburi, 20131, Thailand
E-Mail: sirichai@go.buu.ac.th

*Corresponding Author

ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์มีค่า 0.03 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ
วิธีที่นำเสนอนี้สามารถใช้กับงานวิเคราะห์ประจำของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดร
คลอไรด์ในรูปแบบยาพ่นจมูก

คำสำคัญ: มอนอลิท, โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง, ออกซีเมตาโซลีน, ไซโลเมตาโซลีน

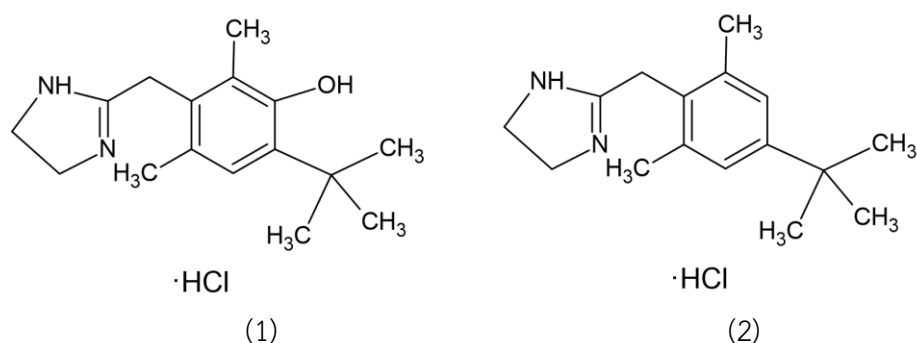
Abstract

In this research, a simple and rapid high-performance liquid chromatography for simultaneous determination of oxymetazoline hydrochloride and xylometazoline hydrochloride in nasal spray formulations was developed. The separation was conducted in monolithic column (C₁₈, 100 mm x 4.6 mm). A mixture of acetonitrile (28% by volume) and 0.01% phosphoric acid (72% by volume) was used as the optimal mobile phase, with the flow rate of 2.50 mL/min. All analytes were detected at 220 nm. Under the optimized conditions, oxymetazoline hydrochloride and xylometazoline hydrochloride could be completely separated within 2 min. Calibration curves for standard solution of oxymetazoline hydrochloride and xylometazoline hydrochloride were in the range of 0.50-10.00 mg/L with $R^2 > 0.9987$. Limits of detection of oxymetazoline hydrochloride and xylometazoline hydrochloride were 0.03 and 0.04 mg/L, respectively. The proposed method can be used for routine analysis of oxymetazoline hydrochloride and xylometazoline hydrochloride in nasal spray formulations.

Keywords: Monolithic, High-performance Liquid Chromatography, Oxymetazoline, Xylometazoline

1. บทนำ

ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ (Oxymetazoline Hydrochloride) หรือ 2-(3-hydroxy-2,6-dimethyl-4- *tert*-butylbenzyl)-2-imidazoline hydrochloride และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ (Xylometazoline Hydrochloride) หรือ 2-(4-*tert*-butyl-2,6-dimethylbenzyl)-2-imidazoline hydrochloride [1] เป็นยาหดหลอดเลือดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการบรรเทาอาการคัดจมูกจากภาวะต่าง ๆ เช่น โรคหวัด ภูมิแพ้ และไซนัสอักเสบ ยาทั้งสองชนิดออกฤทธิ์โดยการกระตุ้นตัวรับแอลฟา-อะดรีเนอร์จิก (Alpha-adrenergic Receptors) ที่เยื่อบุโพรงจมูก ทำให้หลอดเลือดหดตัว ส่งผลให้การบวมลดลงและอาการคัดจมูกบรรเทาอย่างรวดเร็ว ออกซีเมตาโซลีนมีระยะเวลาการออกฤทธิ์ที่ยาวนานและเป็นที่ยอมรับในรูปแบบสเปรย์และยาหยอดจมูก ขณะที่ไซโลเมตาโซลีนมีสมบัติคล้ายกันและใช้ในรูปแบบเดียวกัน แต่มีช่วงเวลาการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน เนื่องจากยานี้มีผลต่อระบบไหลเวียนโลหิต จึงควรระมัดระวังเป็นพิเศษในผู้ที่มีโรคประจำตัว เช่น โรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง หรือปัญหาเกี่ยวกับระบบไหลเวียนโลหิต นอกจากนี้ การศึกษาความปลอดภัยและประสิทธิภาพของออกซีเมตาโซลีนและไซโลเมตาโซลีนยังมีความสำคัญอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้มั่นใจว่าผู้ใช้สามารถบรรเทาอาการคัดจมูกได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ โครงสร้างทางเคมีของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์แสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมี (1) ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ และ (2) โซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และโซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ในรูปแบบยาพ่นจมูกมีหลายวิธี ได้แก่ สเปกโทรสโกปี (Spectroscopy) โดยส่วนใหญ่มีขั้นตอนของการทำอนุพันธ์หรือการเพิ่มความเข้มข้นของสารก่อนการวิเคราะห์ มีตัวแปรที่ศึกษาค่อนข้างมาก และเวลาในการวิเคราะห์นาน [2-6] แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography หรือ GC) วิธีนี้มีขั้นตอนการสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม เช่น ไดคลอโรมีเทนและไดเอทิลอีเธอร์ ซึ่งสารดังกล่าวมีความเป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม [7] และโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance Liquid Chromatography หรือ HPLC) วิธีนี้เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการของอุตสาหกรรมยา เนื่องจากมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ ให้การแยกดี มีความเฉพาะเจาะจง ความแม่นยำ และความเที่ยงสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ร่วมกับตัวตรวจชนิดอัลตราไวโอเลตหรือไดโอดอาร์เรย์ เนื่องจากมีข้อดีในด้านต้นทุนต่ำกว่าเมื่อเทียบกับโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง-แมสสเปกโทรสโกปี และแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี [8-13] อย่างไรก็ตามจากการศึกษาวรรณกรรม การรายงานการวิเคราะห์ปริมาณของสารทั้งสองจะเป็นการวิเคราะห์แยกกัน และมีการรายงานเพียงหนึ่งวรรณกรรมเท่านั้นที่วิเคราะห์สารทั้งสองชนิดนี้พร้อมกันด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และคอลัมน์ที่ใช้เป็นแบบรีเวิร์สเฟส [14] ซึ่งยังไม่พบการรายงานการใช้คอลัมน์ชนิดมอนออลิกับสารผสมคู่นี้

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงแบบรีเวิร์สเฟส (Reversed-phase HPLC) เป็นเทคนิคการแยกสารทางโครมาโทกราฟี โดยที่สารผสมเกิดการแยกส่วนหรือพาร์ทิชัน (Partition) ระหว่างสองเฟส คือ เฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) และเฟสอยู่กับที่ (Stationary Phase) เฟสเคลื่อนที่เป็นของเหลวซึ่งทำหน้าที่พาสารละลายตัวอย่างไหลผ่านเฟสอยู่กับที่ การไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เกิดขึ้นภายใต้แรงดันสูงเพื่อให้เฟสเคลื่อนที่ผ่านไปยังระบบของโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ในโหมดนี้เฟสอยู่กับที่มีสมบัติความเป็นสารที่ไม่มีขั้ว (Nonpolar) มากกว่าเฟสเคลื่อนที่ หรือเฟสเคลื่อนที่มีความเป็นขั้วมากกว่าเฟสอยู่กับที่ จากความแตกต่างนี้ทำให้เกิดการพาร์ทิชันระหว่างตัวถูกละลายกับเฟสอยู่กับที่ และตัวถูกละลายกับเฟสเคลื่อนที่เป็นกลไกหลักในการแยกสารผสมในโหมดนี้ สารที่มีขั้วมาก จะเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์และถูกตรวจวัดที่ตัวตรวจวัดเป็นลำดับแรก มอนออลิทคอลัมน์เป็นวัสดุสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างรูพรุนแบบต่อเนื่องและได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง

จุดเด่นหลักของคอลัมน์ชนิดนี้คือมีความต้านทานการไหลต่ำ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่ง คือเป็นคอลัมน์ที่มีโครงสร้างรูพรุนแบบต่อเนื่องและเป็นแท่งเดียว ส่งผลให้สามารถใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่สูงได้และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการวิเคราะห์ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์พร้อมกันในรูปแบบยาพ่นจมูก ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับคอลัมน์ชนิดมอนอลิท์ที่ง่าย รวดเร็ว มีความเฉพาะเจาะจง และน่าเชื่อถือ

2. วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม (Optimization) ในการแยกสารออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตัวแปรที่เลือกมาศึกษาในงานวิจัยนี้ได้แก่ ร้อยละของอะซิโตนไนโตรล์ในเฟสเคลื่อนที่ (ร้อยละ 25, 28, 30 และ 40 โดยปริมาตร) และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที) การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) ในเทอมต่าง ๆ และการประยุกต์ใช้วิธีที่นำเสนอภายใต้สภาวะที่เหมาะสมกับตัวอย่างยาพ่นจมูกที่มีองค์ประกอบออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์

2.1 สารเคมีและสารละลายมาตรฐาน

2.1.1 สารเคมี

สารมาตรฐานออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ ความบริสุทธิ์มากกว่าร้อยละ 98 จากบริษัท Tokyo Chemical Industry ประเทศญี่ปุ่น สารมาตรฐานไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ ความบริสุทธิ์มากกว่าร้อยละ 98 จากบริษัท Tokyo Chemical Industry ประเทศญี่ปุ่น อะซิโตนไนโตรล์ เกรด HPLC บริษัท Honeywell ประเทศเยอรมัน กรดออร์โท-ฟอสฟอริก เข้มข้นร้อยละ 85 บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน น้ำปราศจากไอออน 18 เมกะโห์ม จากเครื่อง E-pure Deionization System ของบริษัท Barnstead ประเทศเยอรมัน ใช้สำหรับเตรียมสารละลายทุกชนิด

2.1.2 สารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานเข้มข้น (Stock Standard Solution) ของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์เตรียมในเมทานอลโดยเตรียมแยกกันเพื่อให้ได้ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรและไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารละลายมาตรฐานผสมของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ (0.50, 1.00, 3.00, 5.00 และ 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) เตรียมโดยการปิเปตปริมาตรที่เหมาะสมของแต่ละสารละลายมาตรฐานเข้มข้นลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน สารละลายที่ได้กรองผ่านในลอนเมมเบรนขนาด 0.20 ไมครอนก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

2.2 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์

การแยกสารละลายผสมของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง รุ่น Agilent 1260 Infinity II ของบริษัท Agilent Technologies ประเทศเยอรมัน ตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ (Diode Array Detector) คอลัมน์ที่ใช้คือมอนอลิธ C18 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร ยาว 100 มิลลิเมตร จากบริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา ความยาวคลื่นสำหรับการตรวจวัดคือ 220 นาโนเมตร ส่วนฉีดสารเป็นชนิด Rheodyne ปริมาตรฉีดคือ 20 ไมโครลิตร การชะเป็นแบบไอโซเครติก (Isocratic Elution) การบันทึกและประมวลผลโครมาโทแกรมใช้โปรแกรม OpenLAB CDS ChemStation Workstation VL (A 02.02) ของบริษัท Agilent ประเทศเยอรมัน การวัด pH ของสารละลายทำโดยใช้เครื่องวัดพีเอช รุ่น ϕ 32 ของบริษัท Beckman ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่างยาพ่นจมูกที่ใช้ในงานวิจัยนี้มี 2 ยี่ห้อ คือ อิลิอาติน ระบุว่ามียาออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ร้อยละ 0.05 (500 มิลลิกรัมต่อลิตร) และแอคทาเวีย ระบุว่ามียาไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) การเตรียมตัวอย่างยาพ่นจมูกใช้วิธีการเจือจาง โดยการปิเปตตัวอย่างยาพ่นจมูก อิลิอาตินและแอคทาเวีย อย่างละ 50 ไมโครลิตร ลงในปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนและกรองสารละลายตัวอย่างที่ได้ด้วยเยื่อกรอง (Membrane Filter) ชนิดไนลอน ขนาด 0.20 ไมครอน ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

2.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่พัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์พร้อมกันในตัวอย่งยาพ่นจมูก มีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีในเทอมของขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) ขีดจำกัดการหาปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) เส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linearity of Calibration Curve) ความเที่ยง (Precision) และความแม่นยำ (Accuracy) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

3. ผลและอภิปรายผลการวิจัย

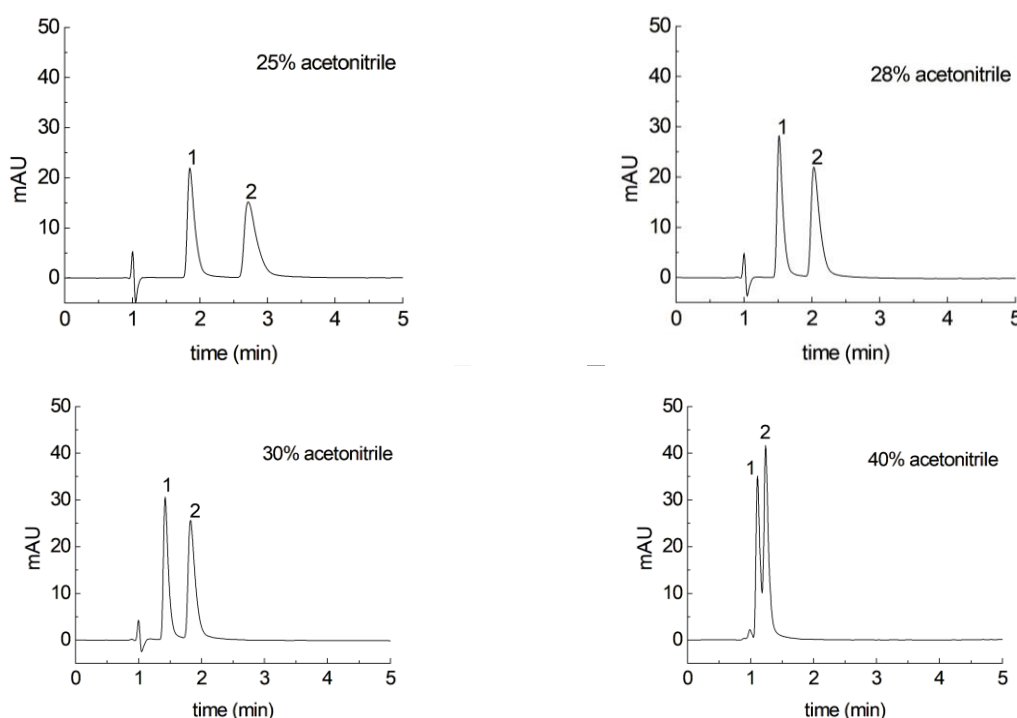
3.1 การศึกษาผลของอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่

ร้อยละของอะซิโตนไตรล์ในเฟสเคลื่อนที่เป็นปัจจัยที่สำคัญในการวิเคราะห์สารผสมด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงแบบรีเวิร์สเฟส เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงร้อยละของอะซิโตนไตรล์ในเฟสเคลื่อนที่จะมีผลต่อสภาพขั้วของเฟสเคลื่อนที่และความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ในการศึกษาครั้งนี้ เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซิโตนไตรล์และสารละลายกรดออร์โท-ฟอสฟอริก (ร้อยละ 0.01 โดยปริมาตร) โดยศึกษา ร้อยละอะซิโตนไตรล์ที่ 25, 28, 30 และ 40 โดยปริมาตร ผลของร้อยละอะซิโตนไตรล์ในเฟสเคลื่อนที่แสดงดังรูปที่ 2

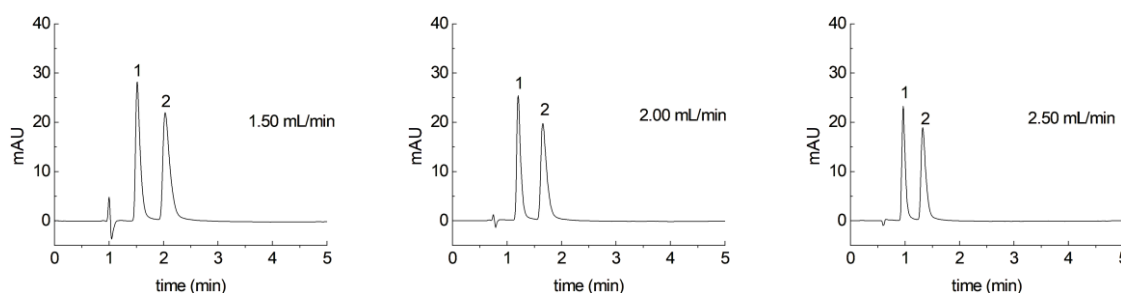
จากผลการทดลองเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มร้อยละของอะซิโตไนโตรลิในเฟสเคลื่อนที่ ทำให้สารที่สนใจถูกชะออกมาจากคอลัมน์เร็วขึ้น (รีเทนชันไทม์ลดลง) เนื่องจากการเพิ่มร้อยละของอะซิโตไนโตรลิในเฟสเคลื่อนที่ ส่งผลทำให้สภาพขั้วของเฟสเคลื่อนที่ลดลง กล่าวคือความแรงในการชะมากขึ้นที่ร้อยละ 25 และ 28 ของอะซิโตไนโตรลิ สารออกซิเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์แยกกันอย่างสมบูรณ์ (ค่าการแยกมากกว่า 1.5) ส่วนที่ร้อยละ 30 และ 40 ของอะซิโตไนโตรลิ สารทั้งสองชนิดแยกไม่สมบูรณ์ ดังนั้น เมื่อพิจารณาในเทอมการแยกและเวลาในการวิเคราะห์ จึงเลือกร้อยละอะซิโตไนโตรลิในเฟสเคลื่อนที่ที่ 28 เป็นสภาวะที่เหมาะสมและใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2 การศึกษาผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

ได้ศึกษาผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่อโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของออกซิเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.50, 2.00 และ 2.50 มิลลิลิตรต่อนาที ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 3 เห็นได้ว่าผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีผลชัดเจนต่อรีเทนชันไทม์ กล่าวคือ เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ค่ารีเทนชันไทม์ของสารแต่ละชนิดลดลง พิจารณาในเทอมค่าการแยกและเวลาในการวิเคราะห์ จึงเลือกที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ 2.50 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสมและใช้ในการศึกษาต่อไป

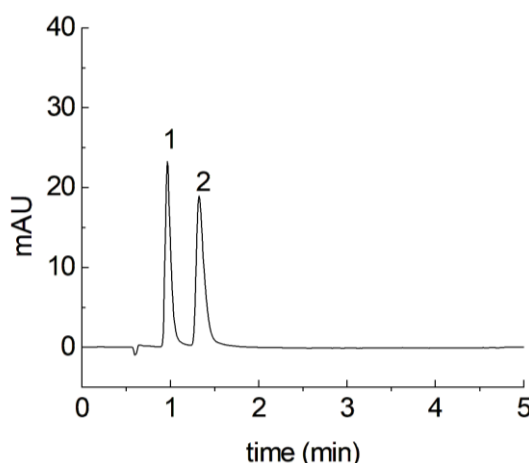


รูปที่ 2 ผลของร้อยละอะซิโตไนโตรลิในเฟสเคลื่อนที่ต่อโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของออกซิเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์ (1 คือ ออกซิเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์ และ 2 คือ ไซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่คือ 1.50 มิลลิลิตรต่อนาที



รูปที่ 3 ผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่อโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ (1 คือ ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ และ 2 คือ ไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์)

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ได้สภาวะที่เหมาะสมดังนี้ เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย อะซิโตนไตรล์และสารละลายกรดอร์โท-ฟอสฟอริก (ร้อยละ 0.01 โดยปริมาตร) ในอัตราส่วน 28 ต่อ 72 โดยปริมาตร อัตราการไหลที่ 2.50 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร รูปที่ 4 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาในการวิเคราะห์กับวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการแยกสารทั้งสองชนิดนี้ [14] พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ สามารถวิเคราะห์ได้เร็วกว่า 5 เท่า



รูปที่ 4 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ภายใต้สภาวะมาตรฐาน (1 คือ ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ และ 2 คือ ไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์)

3.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เป็นกระบวนการยืนยันความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่แสดงให้เห็นว่าวิธีการนั้น ๆ ให้ผลตามที่คาดหวังเพื่อใช้สำหรับการนำไปประยุกต์การวิเคราะห์ เทอมที่ศึกษา ได้แก่ ชีตจำกัดการตรวจวัด ชีตจำกัดการหาปริมาณ เส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ความเที่ยง และความแม่นยำ สภาวะของโครมาโทกราฟี คือ เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซิโตนไนโตรล์และสารละลายกรดออร์โท-ฟอสฟอริก (ร้อยละ 0.01 โดยปริมาตร) ในอัตราส่วน 28 ต่อ 72 โดยปริมาตร อัตราการไหลที่ 2.50 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร

กาหาชิตจำกัดการตรวจวัดและชิตจำกัดการหาปริมาณ จะพิจารณาจากความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ให้อัตราส่วนของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน (Signal-to-noise) เท่ากับ 3 และ 10 ตามลำดับ กราฟมาตรฐานสร้างจากสารละลายมาตรฐานของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ความเข้มข้น 0.50 ถึง 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการกราฟมาตรฐาน LOD และ LOQ ของออกซีเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์และโซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สมการกราฟมาตรฐาน LOD และ LOQ ของออกซีเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์และโซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์

สาร	สมการเส้นตรง ของกราฟมาตรฐาน	R ²	LOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	LOQ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ออกซีเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์	$y = 30.055x + 2.771$	0.9995	0.03	0.10
โซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์	$y = 24.483x + 5.695$	0.9987	0.04	0.15

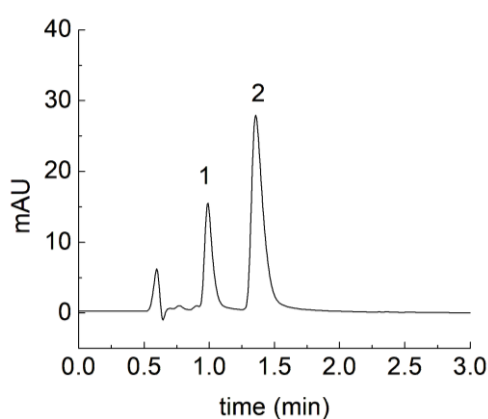
ความเที่ยงของวิธีบอกถึงความใกล้เคียงกันของผลการวิเคราะห์ซ้ำที่พัฒนาขึ้นมา การศึกษาความเที่ยงภายในวันทำโดยการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของออกซีเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์และโซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์ที่ 3 ระดับความเข้มข้น โดยแต่ละความเข้มข้นฉีด 10 ครั้ง และการศึกษาความเที่ยงระหว่างวัน ทำโดยการวิเคราะห์ซ้ำเป็นเวลา 3 วัน แต่ละวันวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง ผลการศึกษาความเที่ยงแสดงดังตารางที่ 2 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์วิธีแสดงในเทอมของร้อยละการได้กลับคืน (Percent Recovery) ศึกษาโดยการเติมสารละลายมาตรฐานของออกซีเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์และโซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์ที่ 3 ระดับความเข้มข้นลงในตัวอย่างยา จากการศึกษาพบว่าร้อยละการได้กลับคืนของออกซีเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์อยู่ในช่วง 97.8-99.1 และโซโลเมตาโซลินไฮโดรคลอไรด์อยู่ในช่วง 98.2-101.3 ซึ่งร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์และค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารทั้งสองอยู่ในเกณฑ์ความน่าเชื่อถือตาม The Association of Official Analytical Chemistry (AOAC) กล่าวคือร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกินร้อยละ 7.3 และค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 80-110

ตารางที่ 2 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของพื้นที่พีคภายในวันเดียวกันและระหว่างวันของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์

สาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	% RSD ภายในวันเดียวกัน	% RSD ระหว่างวัน
ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์	2.00	1.76	3.54
	4.00	1.62	3.31
	6.00	1.65	2.77
ไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์	2.00	1.82	3.11
	4.00	1.78	2.89
	6.00	1.51	2.62

4. การยืนยันความใช้ได้ของวิธีการ

นำวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ในตัวอย่างยาพ่นเจือจาง โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างผสมแสดงดังรูปที่ 5 เห็นได้ว่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ ไม่มีพีกรบกวนในการวิเคราะห์ปริมาณของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ในตัวอย่างยาพ่น ผลการวิเคราะห์พบปริมาณของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ 498 ± 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ 998 ± 3 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 5 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างยาพ่นผสมของออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์เจือจาง ภายใต้สภาวะมาตรฐาน (1 คือออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ และ 2 คือไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์)

5. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับมอนอลิธคอลัมน์เพื่อวิเคราะห์ออกซีเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์และไซโลเมตาโซลีนไฮโดรคลอไรด์ สภาวะที่เหมาะสมของวิธีโครมาโทกราฟีคือเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซิโตนไตริลและสารละลายกรดออร์โท-ฟอสฟอริก (ร้อยละ 0.01 โดยปริมาตร) ในอัตราส่วน 28 ต่อ 72 โดยปริมาตร อัตราการไหลที่ 2.50 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร วิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ทำได้ง่าย รวดเร็ว มีความเฉพาะเจาะจง ความแม่นยำ และความเที่ยงดี สามารถนำไปประยุกต์หาสารทั้งสองในตัวอย่างรูปแบบยาพ่นได้ และสามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพของยาสำหรับงานประจำได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่สนับสนุนทุนวิจัยและห้องปฏิบัติการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, editors. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. 4th ed. London: Pharmaceutical Press; 2011.
- [2] Abdel-Aziz O, El-Kosasy AM, Magdy N, El Zahar NM. Novel spectroscopic methods for determination of Cromolyn sodium and Oxymetazoline hydrochloride in binary mixture. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc [Internet]. 2014;131:59-66. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.04.047>
- [3] Saleh S, Lotfy H, Hassan N, Elgizawy S. Spectrophotometric and chromatographic methods for the determination of a binary mixture of sodium cromoglicate and xylometazoline hydrochloride. Anal Chem Indian J. 2013;13:152-60.
- [4] Othman N, Fathe S. Indirect Spectrophotometric Determination of Oxymetazoline Hydrochloride. Rafidain J Sci [Internet]. 2013;24:84-95. Available from: <https://doi.org/10.33899/rjs.2013.67503>.
- [5] Humeidy I. Spectrophotometric method for Determination of oxymetazoline, HCl in a Pharmaceutical formulation using 2,4-dinitrophenylhydrazine. Tikrit J Pure Sci [Internet]. 2015;20(2). Available from: <https://doi.org/10.25130/tjps.v20i2.1165>.
- [6] Wahdan K, Alnedawi Z, Hassan AM, Hadi H, Shabana A. Cloud Point Pre-concentration with Spectrophotometric Detection for Determination of Oxymetazoline in Pharmaceutical Formulations. Chem Sci J [Internet]. 2021;12(3):1-5.

-
- [7] Sioufi A, Leroux F, Dubois JP. Determination of xylometazoline in plasma and urine by gas chromatography using a fused-silica capillary column and an electron-capture detector. *J Chromatogr* [Internet]. 1989;487(1):81-9. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(00\)83009-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(00)83009-1).
- [8] Alnedawi Z, Hassan AM, Hadi H, Shabana A. Development HPLC technique for determining Oxymetazoline and Isoxspurine in pharmaceutical formulations. *Egypt J Chem* [Internet]. 2022;65(11):779-84. Available from: <https://doi.org/10.21608/ejchem.2022.151275.6551>.
- [9] Raju MD. Method development and validation of Oxymetazoline HCl and Sorbitol in bulk and pharmaceutical dosage form. *J Emerg Technol Innov Res* [Internet]. 2019 Jun;6(6):243-50. Available from: <https://www.jetir.org/papers/JETIR1906324.pdf>.
- [10] Sreelakshmi M, Sasidhar RC, Raviteja B. Reverse phase-HPLC method for simultaneous estimation of tetracaine and oxymetazoline in bulk samples. *J Pharm Sci Res*. 2017;9(9):1589-94.
- [11] Mikawy NN, Magdy N, Mohamed MH, El-Kosasy AM. Validated HPLC method for simultaneous determination of azelastine hydrochloride fluticasone propionate and oxymetazoline in nasal mucosa and nasopharyngeal swabs from real human samples. *Sci Rep* [Internet]. 2025;15(1):4252. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-82387-7>.
- [12] Kasawar GB, Farooqui M. Development and validation of a stability indicating RP-HPLC method for the simultaneous determination of related substances of albuterol sulfate and ipratropium bromide in nasal solution. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2010;52(1):19-29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.11.026>.
- [13] Alghamdi H, Alsaeedi M, Hayes PE, Glennon JD. Rapid and sensitive simultaneous separation and electrochemical detection of tetracaine hydrochloride and oxymetazoline hydrochloride in pharmaceutical formulations via core-shell reversed-phase liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2022;214:114717. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114717>
- [14] Fathy ME, Abo El Abass Mohamed S, Elmansi H, Belal F. Simultaneous Determination of Cromolyn Sodium Combined Dosage Forms Using Isocratic HPLC Method. *J Chromatogr Sci* [Internet]. 2017;55(1):14-22. Available from: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw142>.