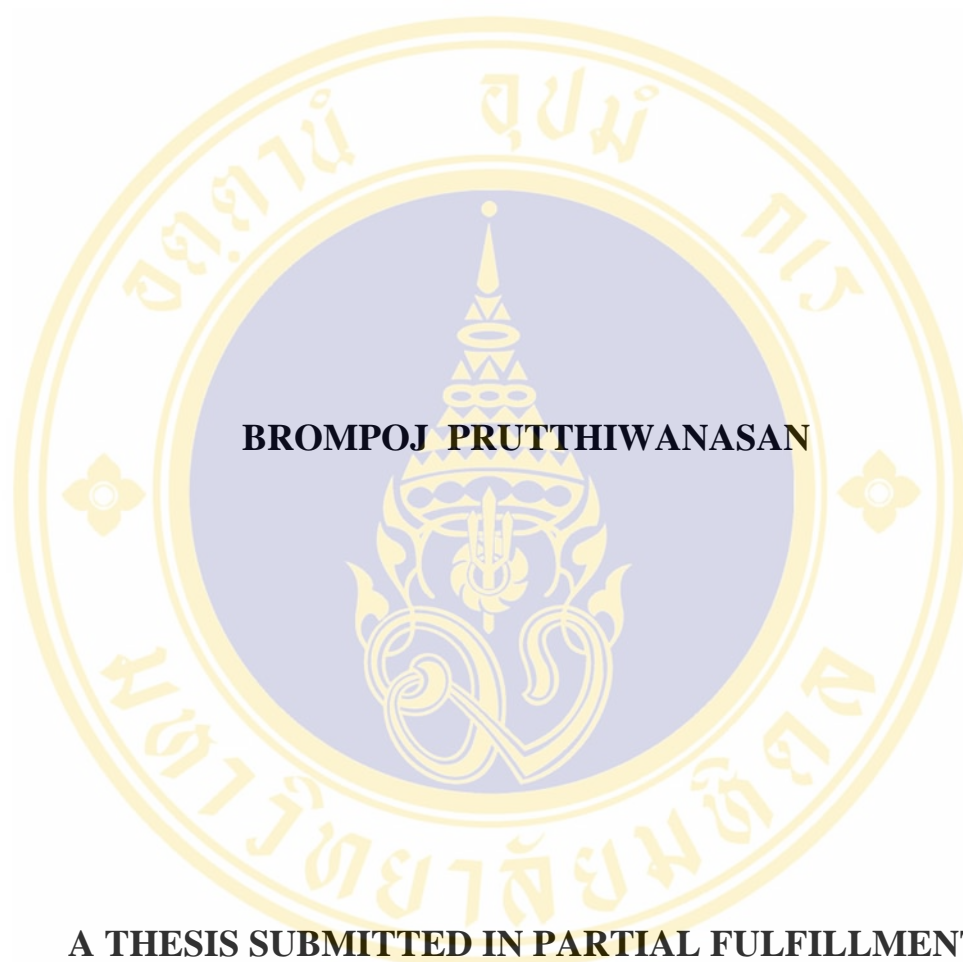


**ANALYSIS OF NON-CHROMOPHORE DRUGS
BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS
USING INDIRECT PHOTOMETRIC DETECTION**



BROMPOJ PRUTTHIWANASAN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PHARMACY)
MAJOR IN PHARMACEUTICAL CHEMISTRY
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2008

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ANALYSIS OF NON-CHROMOPHORE DRUGS BY CAPILLARY
ELECTROPHORESIS USING INDIRECT PHOTOMETRIC DETECTION

BROMPOJ PRUTTHIWANASAN 4837610 PYPE/M

M. Sc. in Pharm. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY)

THESIS ADVISORS: LEENA SUNTORNSUK, Ph.D., NONGLUCK
RUANGWISES, Ph.D.

ABSTRACT

Capillary electrophoresis with an indirect photometric detection was developed for the analysis of non-chromophore alkylphosphonic acids (fosfomycin, dihydrogen phosphate, ethylphosphonic acid, clodronate and alendronate). The development of method was comprised of optimizing the concentration of benzoic acid (15-30 mM) and pH of the background electrolyte (BGE) (4.0-7.0), the multiple co-ions probe BGE (addition of salicylic acids), temperature (20-30 °C) and applied voltage (-25 and -30 kV). Since the use of a single probe BGE did not give a symmetrical peak for clodronate and alendronate due to differences in mobilities, the multiple co-ions probe BGE was employed and optimized. The use of an additional probe, salicylic acid, improved the alendronate peak shape, but clodronate was slightly fronting. As a compromise, the optimum CZE condition was a BGE containing 30 mM benzoic acid (pH 3.8), 5 mM salicylic acid and 0.5 mM cetyltrimethylammonium bromide (CTAB). The temperature of 30 °C and the applied voltage of -30 kV. The condition provided a baseline separation of all analytes in 5 min with the resolution of > 2.19 , number of theoretical plate of $> 35,291$ and tailing factor of 0.54-3.03. Method validation showed good linearity ($r^2 > 0.999$) and precision (%RSD $< 2.67\%$ for migration time and $< 2.47\%$ for peak area). Recoveries were in a range of 97.4-103.6% for fosfomycin, clodronate and alendronate. The limit of detections were 8, 8, 6, 30 and 50 $\mu\text{g/mL}$ for fosfomycin, dihydrogen phosphate, ethylphosphonic acid, clodronate and alendronate, respectively. The limit of quantitations were 20, 20, 15, 100 and 80 $\mu\text{g/mL}$ for fosfomycin, dihydrogen phosphate, ethylphosphonic acid, clodronate and alendronate, respectively. Finally, the validated method was successfully applied for the determination of fosfomycin, clodronate and alendronate in pharmaceutical formulations available in Thailand.

KEYWORDS: CAPILLARY ELECTROPHORESIS/INDIRECT UV DETECTION/
ALKYLPHOSPHONIC ACID/FOSFOMYCIN/CLODRONATE/
ALENDRONATE

121 pp.

การวิเคราะห์ยาที่ไม่มีโครโมฟอร์ด้วยแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟริซิสโดยการตรวจหาด้วยวิธีโฟโตเมตริกทางอ้อม
(ANALYSIS OF NON-CHROMOPHORE DRUGS BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS
USING INDIRECT PHOTOMETRIC DETECTION)

บรมพจน์ พฤติวนาสันต์ 4837610 PYPE/M

ภ.ม. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ลีณา สุนทรสุข, Ph.D., นางลักขณ์ เรืองวิเศษ, Ph.D.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์กรดแอลคิลฟอสฟอนิกที่ไม่มีหมู่โครโมฟอร์ ซึ่งได้แก่ ฟอสโฟไมซิน ฟอสเฟต กรดเอทิลฟอสฟอนิก โคลโคโรเนทและอัลเลนโคโรเนท โดยแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟริซิสด้วยการตรวจหาด้วยวิธีโฟโตเมตริกทางอ้อม การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการแยกของสาร ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก ค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ การใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีตัวตรวจวัดหลายตัว (multiple probes) อุณหภูมิและความต่างศักย์ไฟฟ้า การศึกษาพบว่าการใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีตัวตรวจวัดเพียงชนิดเดียวไม่สามารถให้พีคของโคลโคโรเนทและอัลเลนโคโรเนทที่สมมาตรได้ เนื่องจากมีความแตกต่างระหว่างความเร็วของสารและตัวตรวจวัด ดังนั้นจึงพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีตัวตรวจวัดมากกว่าหนึ่งตัว พบว่าการใช้กรดซาลิไซลิกเป็นตัวตรวจวัดที่สองให้พีคอัลเลนโคโรเนทที่สมมาตร แต่พีคโคลโคโรเนทยังมีลักษณะเบ้ขวา จากการศึกษาพบว่าสภาวะการวิเคราะห์ที่เหมาะสมได้แก่ การใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ซึ่งประกอบด้วย 30 มิลลิโมลาร์ของกรดเบนโซอิก 5 มิลลิโมลาร์ของกรดซาลิไซลิก และ 0.5 มิลลิโมลาร์ของเซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ที่พีเอช 3.8 อุณหภูมิในการแยกสารที่ 30 องศาเซลเซียส และความต่างศักย์ไฟฟ้าในการแยกสารที่ -30 กิโลโวลต์ สภาวะดังกล่าวสามารถแยกสารได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 5 นาที โดยมีค่าการแยกชัดมากกว่า 2.19 จำนวนเพลทมากกว่า 35,291 และ ค่า tailing factor ในช่วง 0.54-3.03 วิธีที่พัฒนาได้ถูกนำมาประเมิน พบว่าให้ความสัมพันธ์เส้นตรงที่ดี ($r^2 > 0.999$) มีความแม่นยำที่ดี (ค่าร้อยละการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของเวลาการเคลื่อนที่ของสารน้อยกว่าร้อยละ 2.67 และของพื้นที่ใต้พีคน้อยกว่าร้อยละ 2.47) การตรวจสอบความถูกต้องโดยค่าเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนของฟอสโฟไมซิน โคลโคโรเนทและอัลเลนโคโรเนทอยู่ในช่วงร้อยละ 97.4-103.6 ค่าลิมิตการตรวจหาของฟอสโฟไมซิน ฟอสเฟต กรดเอทิลฟอสฟอนิก โคลโคโรเนท และ อัลเลนโคโรเนทมีค่า 8, 8, 6, 30 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และค่าลิมิตการวิเคราะห์ปริมาณของฟอสโฟไมซิน ฟอสเฟต กรดเอทิลฟอสฟอนิก โคลโคโรเนท และ อัลเลนโคโรเนทมีค่า 20, 20, 15, 100 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการประเมินได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของฟอสโฟไมซิน โคลโคโรเนทและอัลเลนโคโรเนทในตำรับยาที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

121 หน้า