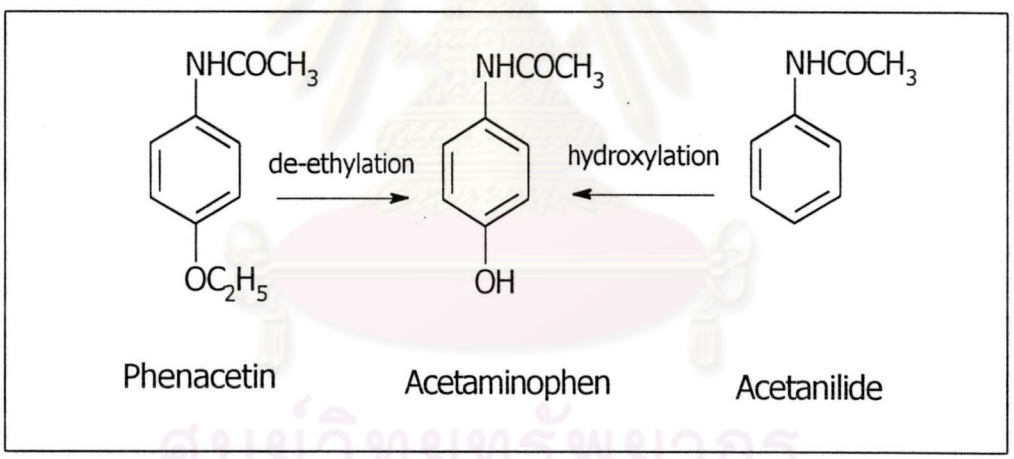
บทที่ 2

การสำรวจ การวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องและทฤษฎี

พาราเซตามอล

พาราเซตามอลมีฤทธิ์แก้ปวดและลดไข้คล้ายฤทธิ์ของแอสไพริน แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ข้อดีของยานี้คือ ไม่ระคายเคืองกระเพาะอาหาร เริ่มใช้ในการรักษาตั้งแต่ ค.ศ. 1893 แต่ยังไม่แพร่หลาย จนกระทั่งปี ค.ศ. 1950 จึงเริ่มเป็นที่รู้จักกันมากขึ้น ในปี ค.ศ. 1955 ประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดให้พาราเซตามอลเป็นยาที่สามารถสั่งจ่ายได้โดยไม่ต้องมีใบสั่งแพทย์ (over the counter drug) ปัจจุบันมีการใช้พาราเซตามอลอย่างแพร่หลาย ทั้งที่อยู่ในรูปยาเดี่ยวและผสมอยู่กับยาชนิดอื่น เช่น ยาลดน้ำมูก ยาแก้ปวด ยาคลายกล้ามเนื้อ เป็นต้น นอกจากนี้พาราเซตามอลยังเป็นเมแทบอไลต์ (metabolite) ที่มีฤทธิ์ของ phenacetin และ acetanilide ด้วย (รูปที่ 2) [40]



รูปที่ 2 โครงสร้างของพาราเซตามอล phenacetin และ acetanilide [40]

กลไกการออกฤทธิ์

ฤทธิ์ลดไข้ของพาราเซตามอลเกิดจากยาไปออกฤทธิ์โดยตรงที่ hypothalamic heat-regulating centers มีผลทำให้หลอดเลือดขยายตัว และมีการขับเหงื่อ ส่วนตำแหน่งและกลไกในการออกฤทธิ์ระงับความเจ็บปวดของพาราเซตามอลยังไม่ทราบแน่ชัด [20,21]

เภสัชจลนศาสตร์ และจลนศาสตร์การเกิดพิษ

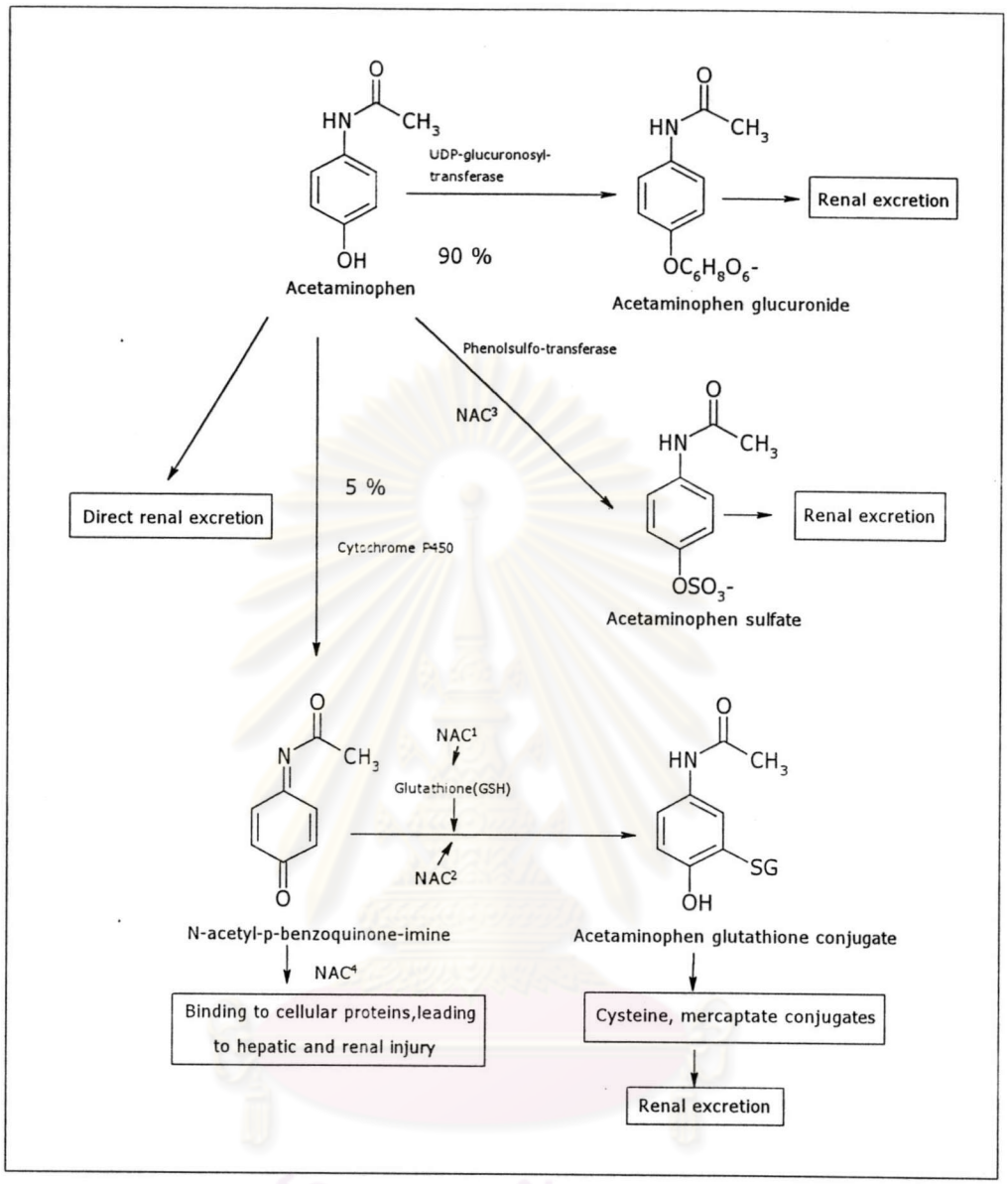
พาราเซตามอลถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์ โดยปกติใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา จากการศึกษาพบว่าการได้รับพาราเซตามอลในรูปแบบยาน้ำ ยาจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้เร็วกว่ายาที่อยู่ในรูปแบบยาเม็ดเล็กน้อย การได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดจะทำให้การดูดซึมยาเข้าสู่ร่างกายจนสมบูรณ์ช้ากว่าปกติ โดยพบว่ายาจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจนสมบูรณ์ภายในเวลา 4 ชั่วโมง หลังการได้รับยา [1]

ค่าครึ่งชีวิตของพาราเซตามอลมีค่าระหว่าง 2.5 – 4 ชั่วโมง ในกรณีที่ตับถูกทำลายค่านี้จะนานขึ้นกว่าปกติ พาราเซตามอลจับกับโปรตีน (protein binding)ในเลือด 10 % และมีค่าปริมาตรการกระจาย (volume of distribution) ประมาณ 0.9 ลิตร/กิโลกรัม [21]

ความเป็นพิษ

การเกิดพิษของพาราเซตามอลเกิดขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ในร่างกาย เมื่อพาราเซตามอลถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ยาประมาณ 2 % จะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะโดยไม่เปลี่ยนแปลง อีกประมาณ 90 % จะถูกเปลี่ยนแปลงโดยผ่านกระบวนการ sulfation และ/หรือ glucuronidation ส่วนที่เหลือประมาณ 5 % จะถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ cytochrome P450 (CYP) ดังแสดงในรูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของพาราเซตามอลจะขึ้นอยู่กับอายุ ในเด็กและเด็กเล็กยาจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ sulfation เป็นสัดส่วนที่มากกว่ากระบวนการ glucuronidation ในคนที่อายุมากกว่า 12 ปีขึ้นไป ยาจะถูกเปลี่ยนแปลงผ่านทั้งสองกระบวนการในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกันมาก [19]

การเปลี่ยนแปลงของพาราเซตามอลผ่าน CYP จะได้เมแทบอไลต์ที่เป็นพิษขึ้น คือ N-acetyl-p-benzoquinone-imine (NAPQI) NAPQI มีค่าครึ่งชีวิตที่สั้นมาก มีความสามารถที่จะไปจับโมเลกุลในเซลล์ตับ เช่น mitochondria และ cell membrane เป็นต้น มีผลทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ตับได้ โดยทั่วไปในเซลล์ตับมี glutathione ซึ่งทำหน้าที่ในการจับกับ NAPQI โดยกระบวนการที่เรียกว่า glutathione conjugation เป็นการปกป้องไม่ให้เซลล์ตับถูกทำลายจากสารนี้ พาราเซตามอลเป็นยาที่มีความปลอดภัยสูง ถ้าให้ในขนาดที่ใช้ในการรักษา อย่างไรก็ตามหากได้รับยาเกินขนาด glutathione ในเซลล์จะถูกใช้ไปในการจับกับ NAPQI และเมื่อปริมาณของ glutathione ลดลงมากกว่า 70 % ของปริมาณที่มีอยู่ตามปกติ NAPQI ที่ยังเหลือจะไปจับกับโมเลกุลต่างๆ ในเซลล์ตับแทนโดยกระบวนการ arylation เป็นผลให้เซลล์ถูกทำลายและเกิดการบาดเจ็บ และ/หรือ เกิดการตายของเซลล์ได้ [1,19]



รูปที่ 3 กระบวนการเปลี่ยนแปลงพาราเซตามอลในร่างกายและตำแหน่งการออกฤทธิ์ของ NAC [1, 19]

NAC [1] = glutathione (GSH) precursor

NAC [2] = GSH substitute

NAC [3] = augments nontoxic sulfation

NAC [4] = improves multiorgan function during hepatic failure

ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษ

การเกิดพิษของพาราเซตามอลเกิดจากความไม่สมดุลกันระหว่าง glutathione ที่มีในเซลล์ตับกับ NAPQI ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทำลายยาในร่างกายโดยเอนไซม์ CYP ในตับ เอนไซม์นี้มีหลาย families แต่ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงพาราเซตามอลแล้วได้ NAPQI คือ CYP 2E1 และ CYP 1A2 โดยที่ CYP 2E1 จะเป็นตัวหลักในการทำให้เกิด NAPQI ส่วน CYP 1A2 จะเป็นส่วนน้อย [1] สารที่มีคุณสมบัติเหนี่ยวนำการทำงานของ CYP 2E1 และ CYP 1A2 ได้ จะทำให้เกิดผลพิษของพาราเซตามอลเพิ่มขึ้น ตัวอย่างของสารที่สามารถเหนี่ยวนำการทำงานของ CYP 2E1 ได้แก่ แอลกอฮอล์ isoniazid rifampicin phenytoin และ carbamazepine เป็นต้น ส่วนสารที่สามารถเหนี่ยวนำการทำงานของ CYP 1A2 ได้แก่ สารกลุ่ม polycyclic aromatic hydrocarbons ที่พบมากในควันบุหรี่ อาหารจำพวกปิ้ง หรือย่าง เป็นต้น [19]

อายุก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพิษของพาราเซตามอล ในเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปี พบว่าจะเกิดพิษจากพาราเซตามอลน้อยกว่าในผู้ใหญ่ที่ได้รับยาขนาดเท่ากัน [19]

อาการเกิดพิษ

ขนาดของพาราเซตามอลที่ทำให้เกิดพิษได้เมื่อรับประทานในครั้งเดียว คือ ผู้ใหญ่มากกว่า 7.5 กรัม และในเด็กมากกว่า 150 มิลลิกรัม/กิโลกรัม [19] อาการพิษจากการได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดแบ่งออกเป็น 4 ช่วง ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าในช่วงแรกหลังจากได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดมักไม่ค่อยมีอาการผิดปกติ ส่วนใหญ่จะพบเพียงอาการคลื่นไส้ อาเจียน เซื่องซึม ส่วนอาการที่บ่งถึงภาวะที่ผู้ป่วยเกิดพิษที่ตับ พบว่าระดับของเอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น และอาจเริ่มพบความผิดปกติของระดับเอนไซม์หลังจากได้รับประทานพาราเซตามอลเกินขนาดไปแล้ว 8 ชั่วโมง ในผู้ป่วยจำนวนเกินกว่าครึ่งที่ได้รับยาเกินขนาดแล้วเกิดภาวะตับอักเสบ (hepatitis) จะตรวจพบระดับเอนไซม์สูงขึ้นภายใน 24-72 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติของค่า prothrombin time และระดับ bilirubin ด้วย จากการศึกษาผู้ป่วยที่เสียชีวิตหรือมีอาการพิษรุนแรงจนต้องทำการปลูกถ่ายตับ พบว่ามีการตายของเนื้อตับบริเวณ sequelae รวมทั้งมีภาวะดีซ่าน การแข็งตัวของเลือดผิดปกติ เกิดภาวะ hepatorenal syndrome และ hepatic encephalopathy ส่วนสาเหตุการเสียชีวิตมักเกิดจากภาวะการทำงานล้มเหลวของอวัยวะหลายแห่งในเวลาเดียวกันและโดยทั่วไปจะพบในช่วงเวลา 72-96 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา ในวันที่ 4-14 หลังจากได้รับยา ถ้าผู้ป่วยรอดชีวิตจะพบว่าการทำงานของตับจะดีขึ้นโดยไม่มีร่องรอยของการเกิด fibrosis [19]

ตารางที่ 1 Phase of acetaminophen poisoning [19]

Phase I (0.5-24 hours) Anorexia, nausea, and vomiting are frequently present. Malaise and diaphoresis may be present. Transaminases may be elevated. Patients may appear normal.
Phase II (24-72 hours) Anorexia, nausea, and vomiting become less pronounced. Right upper quadrant pain may be present. Transaminase levels continue to increase. Bilirubin level may be elevated. Prothrombin time may be prolonged. Renal function may deteriorate
Phase III (72-96 hours) Characterized by the sequelae of hepatic necrosis: jaundice, coagulation defects, renal failure, and hepatic encephalopathy. Liver biopsy reveals centrilobular necrosis. Death due to multiorgan failure may result.
Phase IV (4-14 days) If patients survive, complete resolution of hepatic dysfunction occurs and the liver heals without evidence of fibrosis.

การทำนายผลความเป็นพิษต่อตับ

การรักษาผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด แต่ไม่รุนแรงถึงขั้นเกิดภาวะการตายของเนื้อตับ โดยทั่วไปจะใช้วิธีการรักษาแบบประคับประคองหรือการรักษาตามอาการ การประเมินว่าเกิดการตายของเนื้อตับในผู้ป่วยหรือไม่นั้น ตรวจสอบได้จากการเพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์ AST และ ALT ในซีรัม โดยประมาณภาวะการตายของเนื้อตับได้จากระดับเอนไซม์ทั้งสองในซีรัมมีค่าสูงกว่า 1000 หน่วยสากล/ลิตร การทำนายผลความเป็นพิษของพาราเซตามอลทำได้โดยการ วัดความเข้มข้น

ของพาราเซตามอลในเลือด พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดจะเกิดภาวะความเป็นพิษต่อตับอย่างรุนแรงเป็นจำนวนร้อยละ 60 ถ้าความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่ 4 ชั่วโมงหลังจากได้รับยาพาราเซตามอลสูงเกินกว่า 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือที่ 8 ชั่วโมงหลังได้รับยาสูงเกินกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (อยู่เหนือเส้น 200) และเกิดภาวะความเป็นพิษต่อตับสูงถึงร้อยละ 90 ถ้าระดับความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่ 4 ชั่วโมงหลังจากได้รับยาสูงเกินกว่า 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือที่ 8 ชั่วโมงหลังได้รับยาสูงเกินกว่า 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (อยู่เหนือเส้น 300)

การรักษาโดยการให้ยาแก้พิษ

จากการทดลองพบประโยชน์ของ cysteamine, methionine และ *N*-acetylcysteine (NAC) ว่าสามารถป้องกันการเกิดพิษต่อตับของ NAPQI ได้ แต่เนื่องจาก cysteamine และ methionine มีฤทธิ์ข้างเคียงสูง ดังนั้นยาแก้พิษจำเพาะของพาราเซตามอลที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน คือ NAC

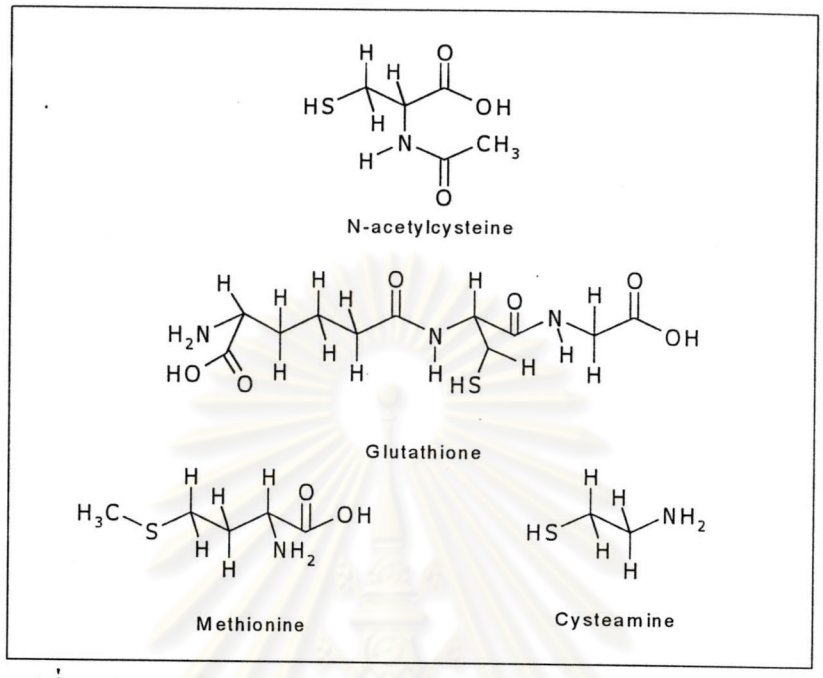
กลไกการออกฤทธิ์[22] (รูปที่ 3)

1. ในสูตรโครงสร้างของ NAC มีหมู่ thiol ซึ่งเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็น cysteine และถูกนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ glutathione
2. ลดพิษของเมแทบอไลต์ที่เป็นพิษ หรือ NAPQI โดยตรง
3. ช่วยเสริมกระบวนการ sulfation โดย NAC จะเป็นแหล่งที่ให้ sulfur สำหรับใช้ในกระบวนการ sulfation
4. เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และ late-phase anti-inflammatory เป็นกลไกที่ออกฤทธิ์ในกรณีที่ให้ NAC ช้า

เภสัชจลนศาสตร์

หลังจากให้ NAC ทางปาก ยาจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายอย่างรวดเร็วและถูกทำลายด้วยกระบวนการ first-pass effect ที่ตับ เหลือยาในกระแสเลือด 10-30 % ค่าปริมาตรการกระจายตัวของยาเท่ากับ 0.5 ลิตร/กิโลกรัม ความเข้มข้นในพลาสมาขึ้นสูงสุดภายในเวลา 1-2 ชั่วโมง ถ้าให้ยาทางหลอดเลือดดำหลังให้ยาแบบ loading dose ในขนาด 150 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ใน 15 นาที จะวัดระดับยาในเลือดได้ประมาณ 500 มิลลิกรัม/ลิตร และระดับยาจะถึงระดับคงที่ (35 มิลลิกรัม/ลิตร) ใน 12 ชั่วโมง

ค่าครึ่งชีวิตของ NAC ในกระแสเลือดคือ 2-3 ชั่วโมง การที่เซลล์ตับถูกทำลายไม่มีผลต่อการกำจัดยาโดยยาจะถูกขับถ่ายทางไตในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลงประมาณ 20-30 % [1]



รูปที่ 4 โครงสร้างของ *N*-acetylcysteine glutathione methionine และ cysteamine [1]

การบริหารยา

การวินิจฉัยการเกิดพิษหลังจากได้รับยาพาราเซตามอลเกินขนาดทำได้โดยการซักประวัติและวัดความเข้มข้นของพาราเซตามอลในเลือดแล้วนำค่ามาเทียบกับ nomogram เมื่อผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในเลือดมีค่าอยู่เหนือเส้น 150 แสดงว่าผู้ป่วยมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดพิษต่อตับ ในทางปฏิบัติมักพิจารณาให้ NAC เพื่อป้องกันความเสี่ยงต่อการเกิดพิษ การให้ NAC ล่าช้า เช่น ให้ NAC หลังจากได้รับพาราเซตามอลเกินกว่า 16 ชั่วโมง จะมีประสิทธิผลในการรักษาลดลง การรักษาจะได้ผลดีที่สุดถ้าได้รับ NAC ภายใน 8-10 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา ดังนั้นในทางปฏิบัติเมื่อซักประวัติได้ว่าผู้ป่วยได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดก็จะให้การรักษาด้วย NAC ไปก่อน ก่อนที่จะทราบผลการตรวจระดับยาในเลือด และหยุดให้ NAC ในภายหลังถ้าผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลปรากฏในภายหลังว่าไม่ได้อยู่ในระดับที่เป็นพิษ [22]

ข้อพึงระวังในการวินิจฉัยความเข้มข้นของพาราเซตามอลโดยใช้ nomogram คือ nomogram ใช้ได้เฉพาะการได้รับพาราเซตามอลเพียงครั้งเดียว ไม่สามารถใช้กับผู้ป่วยที่ได้รับยาหลายครั้ง และผู้ป่วยที่มีการทำงานของตับผิดปกติ ภาวะเป็นพิษต่อตับอาจเกิดขึ้นได้แม้ระดับพาราเซตามอลในเลือด

ต่ำกว่าระดับที่เป็นพิษ ภาวะเหล่านี้ได้แก่ พิษสุราเรื้อรัง ผู้ป่วยได้รับยากระตุ้นเอนไซม์ ผู้ป่วยอยู่ในภาวะขาดอาหาร เป็นต้น ในกรณีเช่นนี้ใช้เส้น 100 ในการวินิจฉัยการให้ยาแก้พิษจำเพาะ [22]

การบริหารยาสามารถให้ได้ทั้งโดยการรับประทานและทางหลอดเลือดดำ ดังแสดงในตารางที่ 2 ประสิทธิผลของ NAC ในการรักษาความเป็นพิษของพาราเซตามอลในผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาดแสดงในตารางที่ 3

อาการข้างเคียง

1. ในกรณีที่บริหารยาโดยการรับประทาน อาการแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยแต่ไม่อันตราย คือ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย ถ้าอาเจียน NAC ออกมาภายหลังจากให้ยา 1 ชั่วโมง ต้องให้ซ้ำพร้อมกับให้ยาแก้อาเจียน

2. ในกรณีที่บริหารยาทางหลอดเลือดดำอาจพบอาการข้างเคียงที่รุนแรงกว่า ที่สำคัญได้แก่ ผื่นคัน ความดันเลือดต่ำ และเกิดภาวะ anaphylactoid reaction ได้ 10 % ภาวะนี้จะเกิดขึ้นหลังจากให้แบบ loading dose ในเวลาประมาณ 15-60 นาที หรือบริหารยาเร็วเกินไป ซึ่งแก้ไขโดยการลดอัตราเร็วของการบริหารยาลง (ภายในเวลา 15 นาที) และให้ antihistamine หรือเปลี่ยนการบริหารยาเป็นการรับประทาน [1,19,22]

ตารางที่ 2 วิธีการบริหาร NAC ในผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด [22]

วิธีการบริหารยา		ปริมาณยารวม (mg/kg)	ระยะเวลา (hour)
การรับประทาน	ให้ 140 mg/kg ครั้งแรก จากนั้นให้ 70 mg/kg ทุก 4 hour 17 ครั้ง โดยละลายในน้ำ น้ำผลไม้ หรือเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาร์บอเนต ให้มีความเข้มข้นประมาณ 5 %	1330	72
ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (ระยะเวลารวม 20 hour)	ให้ 150 mg/kg ใน D5W 200 ml ใน 150 min หลังจากนั้นให้ 50 mg/kg ใน D5W 500 ml ใน 4 hour และ100 mg/kg ใน D5W 1 L ใน 16 hour	300	20-25
ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (ระยะเวลารวม 48 hour)	140 mg/kg ใน D5W ให้ใน 1 hour หลังจากนั้น 70 mg/kg ใน D5W ให้ใน 1 hour ทุก 4 hour อีก 12 ครั้ง	980	48

ตารางที่ 3 ประสิทธิผลของ NAC ในการรักษาความเป็นพิษของพาราเซตามอลในผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาด (ดัดแปลงจาก สุชัย สุเทพารักษ์, 2541) [22]

กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย NAC ในแต่ละช่วงเวลาและระดับยาในเลือด	จำนวนผู้ป่วย	% ผู้ป่วยที่มีภาวะตับถูกทำลาย	% ผู้ที่ตายด้วยภาวะตับวาย
1. กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ NAC ภายในเวลาน้อยกว่า 10 hour ภายหลังได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด			
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (> 200 line)	62	1.6	0
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (> 200 line)	50	10	0
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (> 300 line)	33	3	0
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (>300 line)	24	4.2	0
2. กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ NAC ในช่วงเวลา 10– 24 hour ภายหลังได้รับพาราเซตามอลเกินขนาด			
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (> 200 line)	38	52.6	5.3
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (> 200 line)	85	27.1	2.4
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (> 300 line)	27	63	7.4
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (> 300 line)	50	32	2
3. กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ NAC ภายหลังจากได้รับพาราเซตามอลนานกว่า 24 hour			
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (> 200 line)	100	21	2
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (> 200 line)	135	20.7	1.54
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (> 300 line)	60	30	3.3
-ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (> 300 line)	74	23	1.4

หมายเหตุ - กลุ่มที่ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (> 200 line) หมายถึง การบริหารยา NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น ในผู้ป่วยที่มีระดับพาราเซตามอลในเลือดสูงกว่าเส้น 200

- กลุ่มที่ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (>200 line) หมายถึง การบริหารยา NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว ในผู้ป่วยที่มีระดับพาราเซตามอลในเลือดสูงกว่าเส้น 200

- กลุ่มที่ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น (>300 line) หมายถึง การบริหารยา NAC ทางหลอดเลือดดำระยะสั้น ในผู้ป่วยที่มีระดับพาราเซตามอลในเลือดสูงกว่าเส้น 300

- กลุ่มที่ให้ NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว (>300 line) หมายถึง การบริหารยา NAC ทางหลอดเลือดดำระยะยาว ในผู้ป่วยที่มีระดับพาราเซตามอลในเลือดสูงกว่าเส้น 300

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัม

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในพลาสมาหรือซีรัมของผู้ป่วยมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี แก๊สโครมาโทกราฟี ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี และฟลูออเรสเซนซ์โพลาไรเซชัน อิมมูโนแอสเสย์

สเปกโทรโฟโตเมตรี

Meola, J. M. (1978) [23] ได้เสนอวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมโดยสกัดพาราเซตามอลด้วยสารผสมของ isopropanol methylene chloride และ diethyl ether ในอัตราส่วน 1 : 5 : 2 โดยปริมาตร นำสารสกัดที่ได้ไประเหยจนแห้ง เติม carbonate buffer เพื่อให้ได้ pH 11 ทำให้เกิดสีโดยการเติม Folin-Ciocalteu phenol reagent นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

Routh, J. I., และคณะ (1968) [10] ได้เสนอวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมโดยนำตัวอย่างซีรัมมาสกัดด้วย diethyl ether เติม sodium bicarbonate แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 266 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่พาราเซตามอลมีการดูดกลืนแสงสูงสุด ในปี ค.ศ. 1976 Wilkinson, G. S. [12] ได้เสนอวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมซึ่งสะดวก รวดเร็ว และมีความเที่ยงสูง เพื่อให้เหมาะแก่การนำไปใช้ในงานตรวจความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาด มีวิธีการโดยสังเขปคือ เติมกรด perchloric ลงในซีรัมเพื่อตกตะกอนโปรตีน ให้ความร้อนเพื่อให้พาราเซตามอลเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ *p*-aminophenol ทำให้เกิดสีน้ำเงินโดยเติม ammonium hydroxide และ o-cresol วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 615 นาโนเมตร วิธีของ Wilkinson, G. S. นี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในโรงพยาบาลของประเทศไทยอยู่ในขณะนี้ ในปี ค.ศ. 2001 Afshari, J. T., และ Liu, T. Z. (2001) [24] ได้ดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมที่สะดวกและรวดเร็ว ค่าใช้จ่ายน้อย เหมาะสำหรับงานเร่งด่วน เช่น ในกรณีผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดด้วยการเพิ่มขั้นตอนของการสกัดพาราเซตามอลด้วย ethyl acetate จากนั้นเติมกรด HCl และให้ความร้อน นำมาทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดสีโดยการเติม *2,5*-Dimethylphenol (*p*-xylenol) และsodium periodate วัดการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร

แก๊สโครมาโทกราฟี

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง สามารถวัดพาราเซตามอลในรูปอิสระ (free form หรือ unconjugated form) และ

มีความไวสูง สามารถวิเคราะห์พาราเซตามอลความเข้มข้นน้อยๆ ในซีรัมได้ วิธีแก๊สโครมาโทกราฟีนี้ได้มีการพัฒนากันมาอย่างต่อเนื่อง กล่าวคือ Grove, J. (1971) [6] รายงานวิธีตรวจความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมที่มีความรวดเร็วและมีความไวสูง โดยเติม ammonium sulphate ในซีรัมจนอิ่มตัว แล้วสกัดพาราเซตามอลในซีรัมด้วย ether ที่มี diphenyl phthalate เป็นสารมาตรฐานภายใน จากนั้นนำชั้นของ ether มาระเหยแห้งแล้วละลาย residue ด้วย ether อีกครั้งหนึ่ง นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้คอลัมน์ชนิด 2 % FFAP เคลือบบน Aeropak 30 ขนาด 70/80 mesh ใช้ flame ionization detector อุณหภูมิของ injection port คอลัมน์ และ detector เท่ากับ 280 °C 240 °C และ 280 °C ตามลำดับ และใช้ nitrogen เป็น carrier gas

Prescott, L. F. (1971) [3] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์พาราเซตามอลในซีรัมโดยพยายามแก้ไขปัญหาการเกิดพีคไม่สมมาตร (peak tailing) อันเนื่องมาจากพาราเซตามอลมีจุดเดือดสูง ระเหยได้ยาก ทำให้สารออกมาจากคอลัมน์ช้า Prescott, L. F. ใช้วิธีการเปลี่ยนแปลงพาราเซตามอลให้เป็นสารประกอบอนุพันธ์ของพาราเซตามอลชนิด trimethylsilyl (TMS) ด้วยปฏิกิริยา silylation ได้สารประกอบอนุพันธ์ที่มีจุดเดือดต่ำลงและระเหยได้ง่ายขึ้น โดยสารที่ใช้เป็น derivatizing reagent คือ *N*-trimethylsilylimidazole (TMSI) หรือ *N,O*-bis (trimethylsilyl acetamide) (BSA) ก่อนการทำปฏิกิริยา derivatization ต้องสกัดพาราเซตามอลออกจากซีรัมโดยใช้ ethyl acetate ซึ่งมี *p*-chloro -acetanilide เป็นสารมาตรฐานภายใน หลังจากนั้นวิเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ที่ได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ใช้คอลัมน์ชนิด 10 % OV 17 เคลือบบน Gaschrom Q ขนาด 80/100 mesh ใช้ flame ionization detector อุณหภูมิของคอลัมน์ เท่ากับ 200 °C และใช้ nitrogen เป็น carrier gas

การใช้ TMSI หรือ BSA เป็น derivatizing reagents ตามวิธีของ Prescott, L. F. (1971) [3] มีข้อเสียคือ สารประกอบอนุพันธ์ที่ได้ถูก hydrolysis ได้ง่าย ปฏิกิริยาเกิดยากและมีพีคของ TMSI ออกมารบกวนพีคของสารประกอบอนุพันธ์ที่ต้องการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารอื่นๆ ที่ปนออกมาพร้อมกับการสกัดสามารถเกิดปฏิกิริยากับ TMSI หรือ BSA ได้ ดังนั้น Prescott, L. F. (1971) [4] จึงดัดแปลงวิธี derivatization ใหม่โดยเปลี่ยนไปใช้ปฏิกิริยา acetylation แทน ใช้ acetic anhydride เป็น derivatizing reagent และใช้ ethyl acetate สกัดพาราเซตามอลออกจากซีรัม โดยใช้ *N*-butyryl-*p*-aminophenol เป็นสารมาตรฐานภายใน ใช้คอลัมน์ชนิด 3 % HI-EFF 8 BP เคลือบบน Gas Chrom Q ขนาด 100/120 mesh ใช้ flame ionization detector อุณหภูมิของคอลัมน์ เท่ากับ 220 °C ใช้ nitrogen เป็น carrier gas พบว่าสารอนุพันธ์ที่ได้มีความทนต่อการเกิดการแยกสลายด้วยน้ำและมีความไวดีขึ้น

Thomas, B. H., และ Coldwell, B. B. (1972) [7] ใช้ Regisil® [bis-(trimethylsilyl)-trifluoro -acetamide] เป็น derivatizing reagent ใช้ diethyl ether ซึ่งมี *p*-bromoacetanilide เป็นสารมาตรฐานภายใน ทำการสกัดพาราเซตามอลออกจากซีรัมแล้วทำ derivatization นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟโดยใช้คอลัมน์ชนิด 3 % OV-1 เคลือบบน Gas Chrom Q ใช้ flame ionization detector อุณหภูมิของคอลัมน์ เท่ากับ 160 °C ใช้ nitrogen เป็น carrier gas ข้อดีของวิธีวิเคราะห์นี้ คือ ปฏิกิริยา derivatization เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ไม่มีพาราเซตามอลตกค้างในคอลัมน์ ช่วยยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์

Street, H. V. (1975) [8] ได้เสนอวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมที่มีสารหรือยาอื่นปนอยู่ด้วย เช่น ยากลุ่ม barbiturate โดยสกัดพาราเซตามอล 2 ครั้ง ด้วย diethyl ether และ 5% sodium carbonate ใช้ *N*-butyryl-*p*-aminophenol เป็นสารมาตรฐานภายใน ทำปฏิกิริยา derivatization กับ benzoyl chloride สกัดสารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นด้วย diethyl ether นำไประเหยแห้ง แล้วละลายด้วย acetone นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟโดยใช้คอลัมน์ ชนิด SE-52 เคลือบบน chromosorb ขนาด 100/120 mesh ใช้ flame ionization detector อุณหภูมิของ injection port และอุณหภูมิของ detector เท่ากับ 250 °C ตามลำดับ และอุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 220 °C ใช้ nitrogen เป็น carrier gas

Dechtiaruk, W. A., และ คณะ (1976) [9] พบว่าวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลโดยวิธีแก๊สโครมาโทรกราฟีที่ใช้กันอยู่เดิมนั้นมีขั้นตอนซับซ้อนและใช้เวลาในการวิเคราะห์มาก และยังมีส่วนของพาราเซตามอลที่ไม่ได้เกิดปฏิกิริยา derivatization ตกค้างอยู่ในคอลัมน์ ส่วนสารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้น เช่น trimethylsilyl derivatives ไม่คงตัว Dechtiaruk, W. A., และคณะ (1976) ได้เสนอวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลเพื่อให้ได้สารอนุพันธ์ในรูปของ *O*-heptyl-*N*-methyl derivative ซึ่งคงตัวกว่าและให้พีคที่สมมาตร แสดงว่าไม่มีการดูดซับของสารในคอลัมน์ วิธีการโดยสังเขป คือ สกัดพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัมด้วยสารผสมระหว่าง diethyl ether กับ toluene ในสัดส่วน 40 : 60 โดยปริมาตร ใช้ *N*-propionyl-*p*-aminophenol เป็นสารมาตรฐานภายใน นำสารละลายที่ได้จากการสกัดครั้งแรกมาสกัดด้วย diethyl ether อีกครั้ง และนำสารสกัดที่ได้มาระเหยแห้ง นำมาทำปฏิกิริยา alkylation โดยใช้ *N,N*-dimethylacetamide, tetramethylammonium hydroxide และ iodoheptane ปั่นแยกตะกอนออก นำส่วนสารละลายใสมาระเหยแห้งและเติม trimethylanilinium hydroxide จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้คอลัมน์ชนิด 3 % OV-17 เคลือบบน Gas Chrom Q ขนาด 100/120 mesh ใช้ flame ionization detector อุณหภูมิของ injection port เท่ากับ 250 °C

อุณหภูมิของคอลัมน์ ใช้แบบ temperature program โดยตั้งอุณหภูมิ 150 °C ถึง 260 °C อัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิคือ 16 °C/นาที อุณหภูมิของ detector เท่ากับ 300 °C และใช้ nitrogen เป็น carrier gas

Baty, J. D., และ Robinson, P. R. (1976) [25] นำแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (GC-MS) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวสูงมาก มาใช้เพื่อศึกษาเภสัชจนศาสตร์ของพาราเซตามอล โดยพาราเซตามอลที่ศึกษาเป็นเมแทบอไลต์ของ acetanilide และ phenacetin วิธีวิเคราะห์โดยสังเขป คือ สกัดพาราเซตามอลจากซีรัมด้วย ethyl acetate ที่มี acetanilide-d_0 และ phenacetin-d_3 เป็นสารมาตรฐานภายใน นำสารสกัดที่ได้มาระเหยแห้งแล้วทำปฏิกิริยากับ BSA วิเคราะห์สารอนุพันธ์ที่ได้ด้วย GC-MS โดยใช้คอลัมน์ชนิด 3 % OV 17 เคลือบบน Gas Chrom Q ขนาด 100/120 mesh ใช้ MS เป็น detector

Garland, W. A., และคณะ (1977) [26] พบว่าการตรวจวิเคราะห์ phenacetin สามารถทำได้โดยการตรวจสารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของ phenacetin ในร่างกายเป็นพาราเซตามอล การวิเคราะห์ phenacetin และพาราเซตามอลโดยใช้ GC ตามวิธีของ Grove, J. (1971) [6]; Prescott, L. F. (1971) [3,4] และ Thomas, B. H. (1972) [7] ถึงแม้ว่าจะสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารในเลือดที่ความเข้มข้นต่ำๆได้ แต่มีความไวยังไม่เพียงพอในตรวจหาปริมาณเมื่อผู้ป่วยได้รับ phenacetin และพาราเซตามอลในขนาดการรักษา Garland, W. A., และคณะ (1977) ได้เสนอวิธีการตรวจ phenacetin และพาราเซตามอลในปริมาณน้อยๆ ในเลือดผู้ป่วยด้วยวิธี GC-MS โดยใช้คอลัมน์ชนิด 3 % OV 17 เคลือบบน Gas Chrom Q ขนาด 100/120 mesh ใช้ MS เป็น detector อุณหภูมิของ injection port เท่ากับ 300 °C อุณหภูมิของคอลัมน์เป็นแบบ temperature program โดยตั้งอุณหภูมิจาก 180 °C ถึง 195 °C

Kaa, E. (1980) [27] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์พาราเซตามอลในผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาดแบบเฉียบพลัน ซึ่งมีความจำเพาะสูง ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยและสามารถวิเคราะห์ได้ 1 ตัวอย่างในเวลา 3 นาที โดยพีคของสารมาตรฐานภายในและพาราเซตามอลจะออกมาที่เวลา 1 นาที และ 1.9 นาที ตามลำดับ วิธีการโดยสังเขปคือ สกัดพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัมด้วย ethyl acetate ใช้ 2-acetaminophen เป็นสารมาตรฐานภายใน นำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้ง ละลายด้วย toluene นำมาทำปฏิกิริยา derivatization โดยใช้ trifluoroacetic anhydride เป็น derivatizing reagent นำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้คอลัมน์ชนิด 2.8 % OV-210 และ3.2% OV-1 เคลือบบน chromosorb W HP ขนาด 80/100 mesh ใช้ flame ionization detector อุณหภูมิ injection port คอลัมน์และ detector เท่ากับ 120 °C 200 °C และ250 °C ตามลำดับ และใช้ nitrogen เป็น carrier gas

Murray, S., และ Boobis, A. R. (1991) [28] พัฒนาวิธี GC-MS ในการตรวจวัดความเข้มข้นของพาราเซตามอลโดยใช้ capillary column เปลี่ยนพาราเซตามอลให้เป็นสารอนุพันธ์ชนิด trifluoroacetyl derivatives และใช้ deuterated analogues ของพาราเซตามอลเป็น สารมาตรฐานภายใน

Speed, D. J., และคณะ (2001) [29] นำวิธี GC-MS มาวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมและตับ โดยสกัดพาราเซตามอลด้วย Bond Elut Certify ® คอลัมน์ ใช้ iodobutane และ tetramethyl ammonium hydroxide เป็น derivatizing reagent สกัดสารอนุพันธ์ที่ได้ด้วย ethyl acetate และใช้ deuterated analogue ของพาราเซตามอล เป็นสารมาตรฐานภายใน

ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

วิธี HPLC เป็นวิธีวิเคราะห์ปริมาณพาราเซตามอลวิธีหนึ่งที่มีความไวสูง Burtis, C. A., และคณะ (1970) [30] ใช้ HPLC ในการวิเคราะห์เมแทบอไลต์ของ phenacetin ในปัสสาวะ Mrochek, J. E., และคณะ (1974) [14] ใช้ HPLC วิเคราะห์เมแทบอไลต์ของพาราเซตามอลในเลือดและปัสสาวะ วิธีที่นักวิจัยทั้ง 2 กลุ่มดังกล่าวใช้นี้ไม่เหมาะกับการนำมาใช้ในงานวิเคราะห์พาราเซตามอลที่มีลักษณะงานเป็นงานประจำ Riggin, R. M., และคณะ (1975) [31] พัฒนาวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมที่สามารถใช้ในงานประจำได้เหมาะสมขึ้น แต่ต้องใช้ปริมาณซีรัมเป็นจำนวนมาก (3 มิลลิลิตร) Wong, L. T., และคณะ (1976) [32] จึงได้พัฒนาวิธีการตรวจพาราเซตามอลในซีรัมโดยใช้ตัวอย่างซีรัมน้อยลง (1 มิลลิลิตร)

Gotelli, G. R., และคณะ (1977) [16] พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ phenacetin และพาราเซตามอลในรูปอิสระในซีรัมโดยใช้ตัวอย่างซีรัมเพียงเล็กน้อย (0.1 มิลลิลิตร) วิธีการโดยสังเขปคือ ใช้ ethyl acetate สกัดพาราเซตามอลออกจากซีรัม ใช้ acetoacetanilide เป็นสารมาตรฐานภายใน ปั่นแยกและนำส่วน ethyl acetate ไประเหยแห้ง ละลายด้วย methanol นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด μ Bondapack C18 ใช้ mobile phase ประกอบด้วย acetonitrile และ phosphate buffer pH 4.4 ในอัตราส่วน 19 : 81 โดยปริมาตร และใช้ UV detector วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

Horvitz, R. A., และ Jatlow, P. I. (1977) [17] พัฒนาวิธีตรวจปริมาณพาราเซตามอลด้วย HPLC เพื่อนำมาใช้กับผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาด วิธีการโดยสังเขปคือ ใช้ diethyl ether สกัดพาราเซตามอลออกจากซีรัมโดยใช้ *N*-propionyl-*p*-aminophenol เป็นสารมาตรฐานภายใน ปั่นแยก นำส่วนของ diethyl ether ไประเหยจนแห้ง ละลาย residue ที่ได้ด้วย methanol นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ใช้คอลัมน์ชนิด partisil-10 ODS reversed-phase silica ใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย acetonitrile

และ 0.1 โมล/ลิตร potassium phosphate buffer pH 2.7 ในอัตราส่วน 1 : 19 โดยปริมาตร ใช้ UV detector วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

O' connell, S. E., และ Zurzola, F. J. (1982) [33] เสนอวิธีการตรวจปริมาณพาราเซตามอลด้วย HPLC ซึ่งสะดวก รวดเร็ว และสามารถลดการสูญเสียสารอันเนื่องมาจากขั้นตอนของการสกัดสารออกมาจากซีรัมโดยใช้สารละลาย 0.3 นอร์มอล $Ba(OH)_2$ และ 5% $ZnSO_4$ เพื่อตกตะกอนโปรตีน จากนั้นนำมาปั่นแยกตะกอน ใช้ส่วนใสมาวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด C_{18} silicas reversed-phase ใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol และน้ำ ในอัตราส่วน 15 : 85 โดยปริมาตร และใช้ UV detector วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร

Campanero, M. A., และคณะ (1999) [34] พัฒนาวิธีตรวจปริมาณพาราเซตามอลในเลือดโดยใช้ HPLC เพื่อใช้ในการศึกษาทางด้านเภสัชจลนศาสตร์ วิธีการโดยสังเขปคือ สกัดพาราเซตามอลจากซีรัมด้วย ethyl acetate ใช้ *p*-propionamidophenol เป็นสารมาตรฐานภายใน ปั่นแยกชั้นของ ethyl acetate มาระเหยแห้งและละลาย residue ด้วยน้ำ แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด C_8 silica revered-phase ใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย acetonitrile และ 0.005 โมล/ลิตร potassium dihydrogen phosphate buffer pH 3 อัตราส่วน 20 : 80 โดยปริมาตร ใช้ UV detector วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 242 นาโนเมตร วิธีนี้สามารถตรวจพาราเซตามอลในซีรัมที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0.05 ถึง 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้ตัวอย่างซีรัมเพียง 0.1 มิลลิลิตร

ฟลูออเรสเซนซ์โพลาไรเซชัน อิมมูโนแอสเสย์

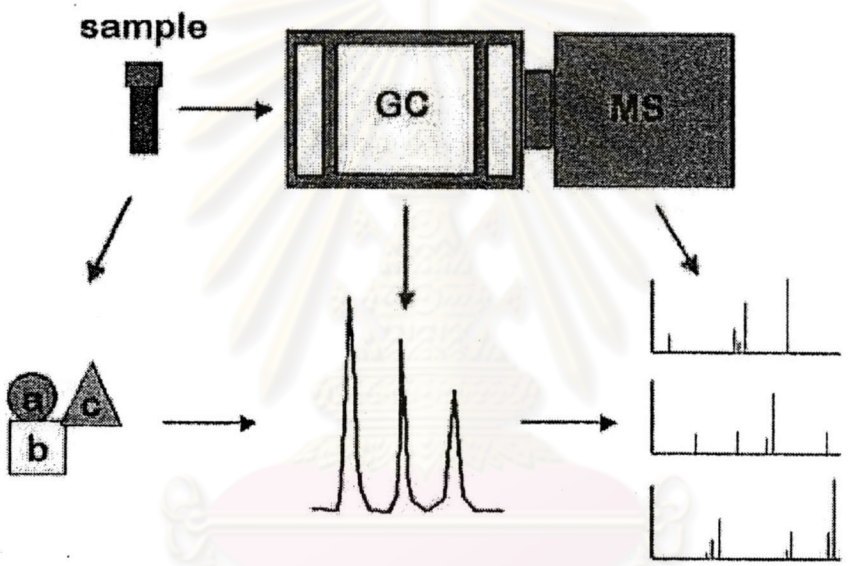
FPIA เป็นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สาร/ยาหลายชนิดในชีววัตถุ บริษัท Abbott Laboratories ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้พัฒนาชุดน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับการวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมด้วยเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ของบริษัท Abbott Laboratories ซึ่งใช้หลักการของ FPIA ได้แก่ เครื่อง TDx® เครื่อง TDxFLx® เครื่อง ADx® และเครื่อง Axsym® เป็นต้น [13,35]

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลักการวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วย ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

การวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสปกโทรเมตรี (ดัดแปลงจากวิธีของ Prescott, L.F, 1971b [4])

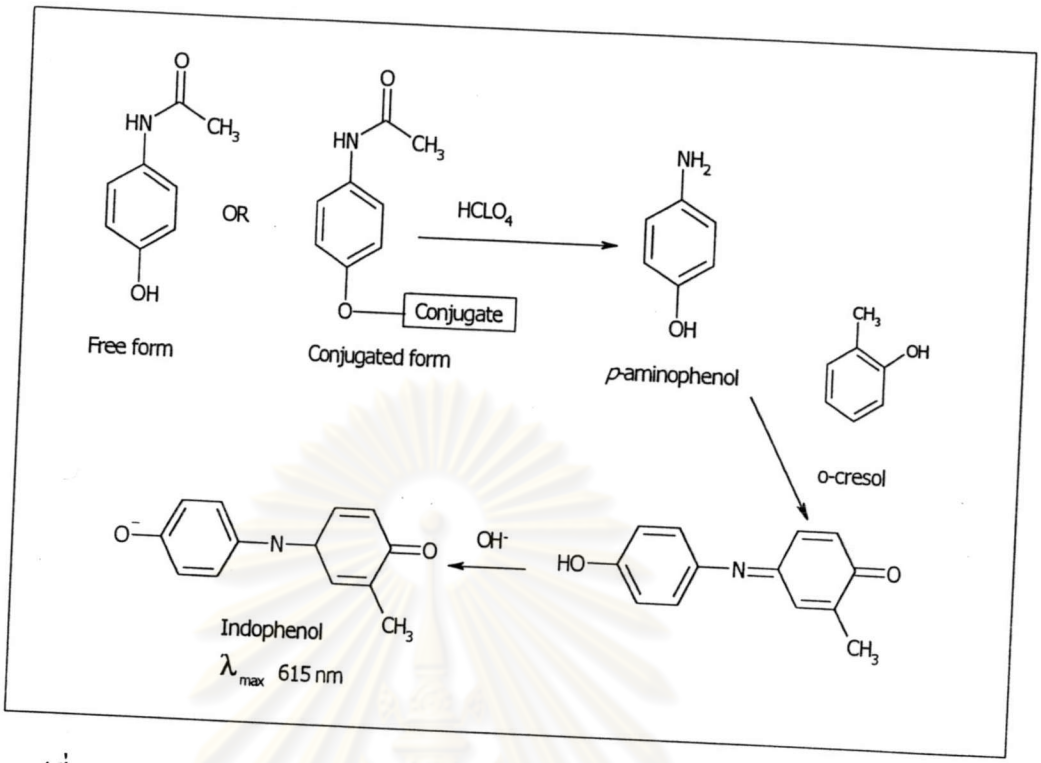
<u>หลักการ</u> สกัดพาราเซตามอลออกจากซีรัมด้วย ethyl acetate เติม phosphate buffer pH 7.4 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด นำส่วน ethyl acetate ไประเหยแห้ง ละลาย residue ด้วย ethanol นำมาวิเคราะห์ปริมาณด้วย GC-MS (รูปที่ 5)



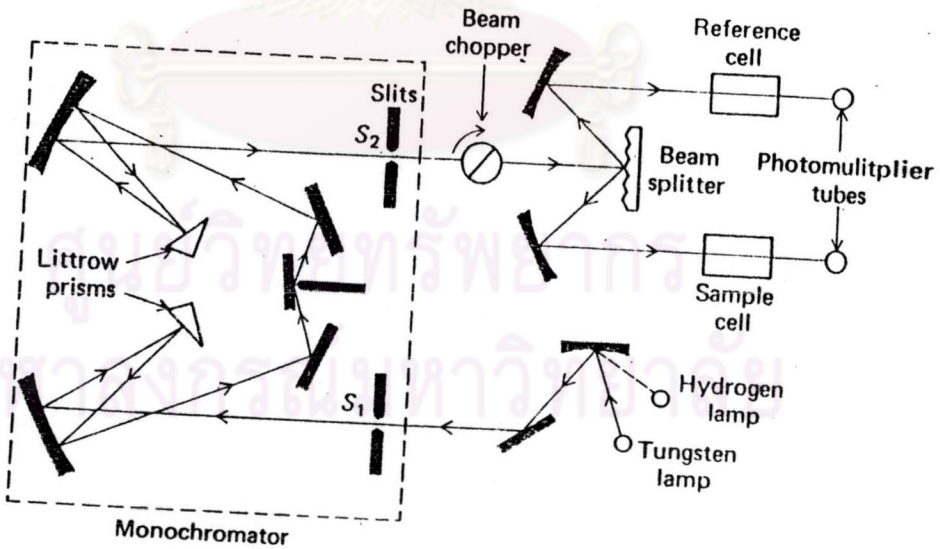
รูปที่ 5 ส่วนประกอบของเครื่อง GC-MS [36]

การวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี (Wilkinson, G. S., 1976 [12])

<u>หลักการ</u> ตกตะกอนโปรตีน และ hydrolyzed ตัวอย่างซีรัมด้วย perchloric acid และใช้ความร้อนช่วยเพื่อให้พาราเซตามอลในรูปอิสระและรูปคอนจุเกต (conjugated form) เปลี่ยนเป็น *p*-aminophenol เติม o-cresol และ ammonium hydroxide ลงไป จะได้เป็น indophenol ซึ่งมีสีน้ำเงิน (รูปที่ 6) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (รูปที่ 7) ที่ความยาวคลื่น 615 นาโนเมตร



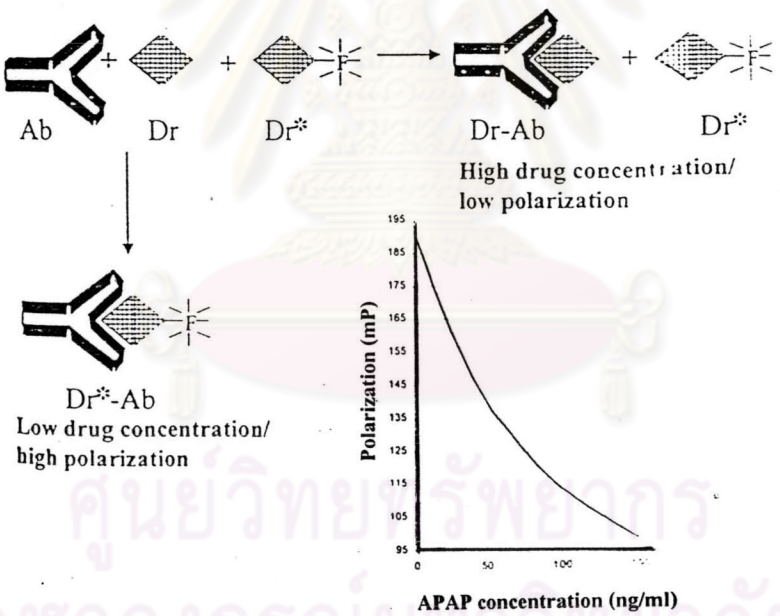
รูปที่ 6 ปฏิกิริยาการเกิดสีในการวิเคราะห์พาราเซตามอลด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี



รูปที่ 7 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์[37]

การวิเคราะห์ด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์โพลาไรเซชัน อิมมูโนแอสเสย์

<u>หลักการ</u> ใช้พาราเซตามอลที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง มาทำปฏิกิริยากับแอนตีบอดี เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนตีเจนกับแอนตีบอดี เมื่อให้แสงกระตุ้นที่เป็นแสงโพลาไรส์ สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจะเรืองแสงได้ โดยแสงที่เรืองออกมานั้นยังคงเป็นแสงโพลาไรส์ แต่เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนเป็นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ไม่สามารถหมุนได้อย่างอิสระ แสงที่เรืองออกมานั้นจะให้ค่าโพลาไรเซชันสูง ถ้าเติมตัวอย่างซีรัมซึ่งมีพาราเซตามอลกับพาราเซตามอลที่ติดฉลากด้วยสารเรืองในน้ำยาสำเร็จรูป ทำปฏิกิริยากับแอนตีบอดีพร้อมกัน พาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัมกับพาราเซตามอลที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงจะเกิดการแย่งจับ (competitive binding) กับแอนตีบอดี ทำให้มีพาราเซตามอลที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงเหลืออยู่ ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กสามารถหมุนได้อย่างอิสระ ค่าโพลาไรเซชันจะลดลง ค่าโพลาไรเซชันที่วัดได้จะแปรผกผันกับปริมาณพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัม (รูปที่ 8) ส่วนประกอบของเครื่อง TDx ที่ใช้วิเคราะห์พาราเซตามอลโดยอาศัยหลักการของ FPIA แสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 8 หลักการวิเคราะห์พาราเซตามอลในซีรัมโดยวิธี FPIA [35]

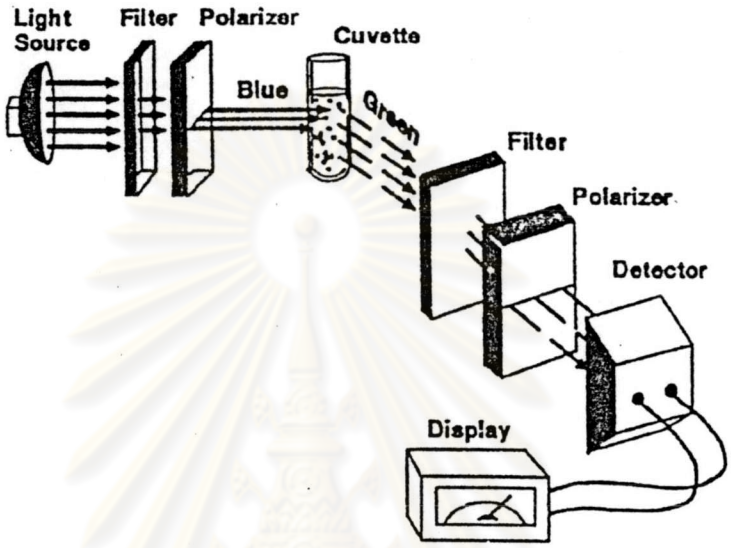
Ab = แอนตีบอดี

Dr = พาราเซตามอล

Dr* = พาราเซตามอลที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง

Dr- Ab = สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัมกับแอนตีบอดี

Dr* - Ab = สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างพาราเซตามอลที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงกับแอนตีบอดี



รูปที่ 9 ส่วนประกอบของเครื่อง TDx [13]

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย