



บทความวิชาการเพื่อการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง สมบัติทางสเตอริโอเคมีของยาและการควบคุมคุณภาพยาไครัล

(Stereochemistry property of drug and quality control of chiral drug)

ผู้เขียน ผศ.ดร.ภญ.ศรียวรรณ ธีระมันคง

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

*ติดต่อผู้พิมพ์ : sewan@tu.ac.th

จำนวนหน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง

2.5 หน่วยกิต

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายลักษณะสเตอริโอเคมีของยาและสมบัติที่แตกต่างกันของคู่อิโซเมอร์ได้
2. อธิบายความสำคัญของสเตอริโอเคมีของยาต่อการออกฤทธิ์ของยา
3. อธิบายเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารอีนันทิโอเมอร์
4. อธิบายการควบคุมคุณภาพยา และยกตัวอย่างวิธีตรวจสอบวัตถุดิบของยาไครัล

บทคัดย่อ

ยาแผนปัจจุบันจำนวนมากมีโครงสร้างที่มีสมบัติเป็นยาไครัล ยาอีนันทิโอเมอร์มีโครงสร้างการจัดวางตัวของอะตอมที่แตกต่างกันอาจทำให้ยาแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พิษวิทยา และเภสัชจลนศาสตร์ แตกต่างกัน แนวโน้มยาที่เป็นสารอีนันทิโอเมอร์รูปเดี่ยวบริสุทธิ์มีจำนวนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ การควบคุมคุณภาพยาทั้งรูปแบบวัตถุดิบและยาสำเร็จรูปมีมากขึ้น เทคนิคในการตรวจสอบตามเภสัชตำรับมีทั้งเครื่องมือที่ใช้หลักการหมุนระนาบแสง และโครมาโทกราฟีเพื่อแยกคู่สารอีนันทิโอเมอร์และหาปริมาณร้อยละของสารอีนันทิโอเมอร์รูปเดี่ยว ทำให้สามารถควบคุมคุณภาพ หรือกำกับคุณภาพยาไครัลให้ได้มาตรฐานเป็นไปตามมาตรฐานสากล ปลอดภัยแก่ผู้ใช้ บทความนี้อธิบายความรู้ด้านสเตอริโอเคมีของยา คำจำกัดความของคำต่างๆ อธิบายเทคนิคในการตรวจสอบ รวมถึงยกตัวอย่างสั้นๆ เกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพยาไครัลในเภสัชตำรับ

คำสำคัญ ยาไครัล อีนันทิโอเมอร์ การควบคุมคุณภาพยา ยูโทเมอร์ ราซีเมต

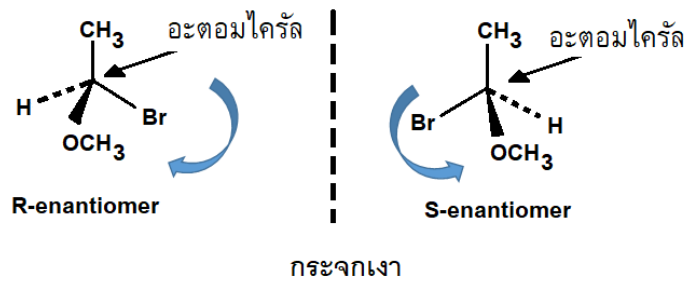
บทนำ

สารที่มีสูตรโมเลกุลเหมือนกัน แต่การเชื่อมต่อหรือการจัดวางตัวของอะตอมใน 3 มิติ แตกต่างกัน เราเรียกลักษณะนี้เป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ซึ่งกันและกัน โมเลกุลสารที่มีโครงสร้างใน 3 มิติต่างกันเหล่านี้มีความสำคัญถึงการออกฤทธิ์ของยา ยาที่ใช้ในปัจจุบันมักมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยอะตอมกลางที่เป็นศูนย์กลางไครัล (chiral center) สามารถเรียกยานี้ว่า “ยาไครัล (chiral drug)” หลุยส์ ปาสเตอร์ (Louis Pasteur) เป็นผู้พบสมบัติความเป็นไครัลของโมเลกุลสารตั้งแต่ปี ค.ศ.1847 ถึงแม้ว่าโครงสร้างทางเคมีของคู่อิโซเมอร์จะคล้ายกันมาก แต่สารส่วนใหญ่กลับแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พิษวิทยา เภสัชจลนศาสตร์ เมแทบอลิซึมที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากร่างกายมนุษย์มีตัวรับที่เฉพาะเจาะจง ส่งผลให้มีสมบัติในการเลือกจับสารอิแนนทิโอเมอร์ที่เฉพาะ ดังนั้นยาที่เป็นอิแนนทิโอเมอร์รูปเดียวบริสุทธิ์ จึงมีแนวโน้มในการนำมาใช้รักษาโรคอย่างเฉพาะเจาะจงมากขึ้น^{1,2,3} ซึ่งทำให้การผลิตยาบางชนิดจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบในหัวข้อที่เกี่ยวข้องกับการจัดเรียงโครงสร้างใน 3 มิติที่ส่งผลต่อการออกฤทธิ์ของยา ดังนั้นเภสัชกรควรทำความเข้าใจถึงชนิดและลักษณะสเตอริโอไอโซเมอร์ต่างๆ เพื่อให้เข้าใจความสำคัญโครงสร้างใน 3 มิติต่อการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยา

ชนิดของสเตอริโอไอโซเมอร์

สเตอริโอไอโซเมอร์สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

1. **อิแนนทิโอเมอร์ (enantiomer)** เป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ 2 ตัวที่มีคาร์บอน 1 อะตอมที่ไม่สมมาตรกัน เรียกศูนย์กลางไครัล (chiral center) ทำให้ได้คู่สารที่มีโครงสร้างเป็นเงากระจกของกันและกัน (mirror image) ไม่สามารถวางซ้อนทับกันได้สนิท (non-superimposable) เรียก โครงสร้างสารนั้นว่าเป็น “คู่อิแนนทิโอเมอร์ (a pair of enantiomers)” การเรียกคู่อิแนนทิโอเมอร์พิจารณาจากการวางตัวแบบ 3 มิติของหมู่ที่ต่อกับอะตอมไครัล (chiral atom) ในโครงสร้างตามกฎ Cahn-Ingold-Prelog (CIP) convention โดยกำหนดลำดับของหมู่ที่ต่อกับอะตอมไครัล เพื่อดูทิศทางการนับ หากทิศในการนับลูกศรอยู่ในรูปแบบตามเข็มนาฬิกา กำหนดเป็น R และหากทิศในการนับลูกศรอยู่ในรูปแบบทวนเข็มนาฬิกา กำหนดเป็น S ดังรูปที่ 1 สำหรับสารที่เป็นราซีเมตมี configuration เป็น R และ S เท่ากัน ถูกกำหนดเป็น “RS”^{4,5} การกำหนดตำแหน่งการเรียงตัวก่อนหลังของหมู่หรืออะตอมที่ต่อกับอะตอมไครัล พิจารณาจากเลขอะตอมที่ต่อโดยตรงกับอะตอมไครัล อะตอมที่มีเลขอะตอมสูงสุดเป็นลำดับ 1 และเรียงอะตอมที่มีเลขอะตอมจากมากไปหาน้อย เช่น ³⁵Br -> ¹⁶S -> ⁸O -> ⁷N -> ⁶C -> ¹H (รูปที่ 1) หากอะตอมแรกเป็นอะตอมที่มีเลขอะตอมเท่ากัน ให้พิจารณาอะตอมถัดไป อิแนนทิโอเมอร์มีสมบัติทางเคมีกายภาพ (physicochemical properties) เหมือนกันในสภาพแวดล้อมที่ไม่เป็นไครัล ซึ่งจะกล่าวอย่างละเอียดต่อไป



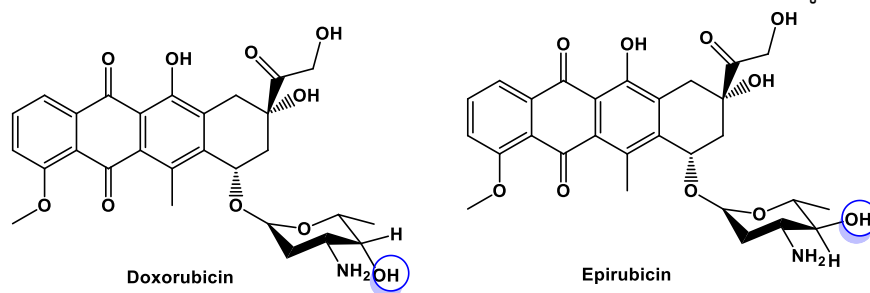
รูปที่ 1 ภาพเงากระจกของคู่อิแนนทิโอเมอร์และทิศทางการหมุนของลำดับหมู่แทนที่ของ R- และ S-enantiomer

สารไครล์มีสมบัติในการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์แตกต่างกัน โครงสร้างที่หมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ไปทางขวาจะถูกระบุเป็น (+) dextrorotatory isomer ส่วนโครงสร้างที่หมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ไปทางซ้ายจะถูกระบุเป็น (-) levorotatory isomer สำหรับสารที่เป็นราซีเมต (racemate) ประกอบด้วยโครงสร้างซึ่งไม่แสดงสมบัติในการบิดระนาบแสงเนื่องจากเกิดการหักล้างพอดี โครงสร้างจะถูกระบุด้วย (±) ซึ่งการกำหนดนี้เป็นค่าที่ได้จากการทดลองเท่านั้น ไม่มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างหรือการจัดเรียงอะตอม

นอกจากคำว่า “อิแนนทิโอเมอร์” ที่คุ้นเคยแล้วยังมีคำศัพท์อื่นที่เกี่ยวข้องที่ควรรู้ เช่น “ยูโทเมอร์ (eutomer)” และ “ดิสโทเมอร์ (distomer)” คำว่า ยูโทเมอร์ หมายถึง สารอิแนนทิโอเมอร์ที่ออกฤทธิ์หรือที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแรงกว่าคู่อิแนนทิโอเมอร์อีกตัวซึ่งมีฤทธิ์อ่อนกว่า ที่เรียกว่า ดิสโทเมอร์⁵

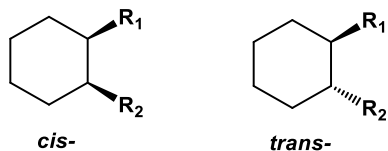
2. ไดแอสเทอริโอเมอร์ (diastereomers) เป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ที่ไม่เป็นคู่เงากระจกของกันและกัน มีอะตอมที่เป็นศูนย์กลางไครล์มากกว่า 1 ตำแหน่ง มีคาร์บอนอย่างน้อย 1 อะตอมที่ไม่สมมาตรกัน ทำให้เกิดไอโซเมอร์ที่ต่างกัน คู่อิโซเมอร์ชนิดนี้มีสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่แตกต่างกัน เช่น ลักษณะรูปร่างผลึก สี จุดเดือด จุดหลอมเหลว ความหนาแน่น ต่างกัน ตัวอย่างโครงสร้างที่มีศูนย์กลางไครล์ 2 ตำแหน่งมี configuration ที่เป็นไปได้คือ (R,S)-, (S,R)-, (R,R)-, (S,S)- และโครงสร้างที่มีศูนย์กลางไครล์ 3 ตำแหน่งมี (R,R,R), (S,S,S), (R,R,S), (S,S,R), (R,S,S), (S,R,R), (R,S,R) และ (S,R,S) เป็นต้น สังเกตเห็นว่าจำนวนสเตอริโอไอโซเมอร์มีได้เท่ากับ 2^n โดย n คือจำนวนศูนย์กลางไครล์ ตัวอย่างไดแอสเทอริโอเมอร์ เช่น ยา ephedrine (1R,2S) กับ pseudoephedrine (1S,2S)

สำหรับคู่อิแนนทิโอเมอร์ที่มีอะตอมที่เป็นไครล์ที่แตกต่างกันเพียงตำแหน่งเดียว นอกนั้นการจัดวางโครงสร้างเหมือนกัน เรียกว่า “อีพิเมอร์ (epimer)” เช่น ยาด้านมะเร็ง doxorubicin มีคู่อิแนนทิโอเมอร์คือ ยาด้านมะเร็ง epirubicin โดยมีการวางตัวของอะตอม OH ที่ต่างกันดังแสดงในวงกลมของรูปที่ 2⁵



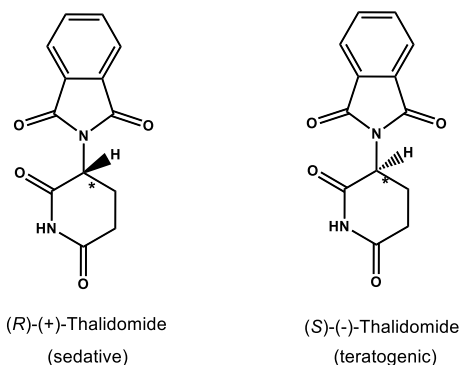
รูปที่ 2 คู่อิแนนทิโอเมอร์ของยา Doxorubicin

3. ไอโซเมอร์เรขาคณิต (geometrical isomer) เป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ 2 ตัวที่มีการวางโครงสร้างในตำแหน่งที่ต่างกัน เช่น *cis-* กับ *trans-* เช่น cyclohexane ที่มีหมู่ที่ต่อกับอะตอมคาร์บอนมีการวางทิศขึ้นหรือลงจากแนวระนาบของวง หากทั้งสองหมู่ชี้ทิศเดียวกัน เช่น ชี้ขึ้นจากแนวระนาบของวง เรียก *cis-* แต่ถ้าหมู่หนึ่งชี้ขึ้นอีกหมู่ชี้ลง เรียก *trans-* (รูปที่ 3) คู่ไอโซเมอร์นี้มีสมบัติทางเคมี ภายภาพ และการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่แตกต่างกัน



รูปที่ 3 การจัดวางตัวของหมู่ R_1 และ R_2 ในรูปแบบ *cis-* และ *trans-* ของวง cyclohexane

ในธรรมชาติสารต่างๆ ที่เป็นไครัลส่วนใหญ่พบว่ามีการสร้างไอโซเมอร์หลักๆ เพียงรูปแบบเดียว เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล โปรตีน ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ เช่น กรดอะมิโนมักพบในรูปแบบแอล (L-) น้ำตาลพบในรูปแบบหลักเป็นแบบดี (D-) เป็นต้น สำหรับยาไครัลที่ได้จากธรรมชาติก็มักพบอยู่ในรูปแบบอีนันทิโอเมอร์เดี่ยวเช่นกัน เช่น morphine, epinephrine, hyoscyne, levothyroxine, levodopa, l-noradrenaline ในทางตรงข้ามสารที่ได้จากการสังเคราะห์จะอยู่ในรูปแบบผสมราซีเมต (racemate mixture) หมายถึง สารผสมที่มีอีนันทิโอเมอร์รูปแบบ (R) และ (S) เท่ากัน ยาทั้งสองรูปแบบจะมีสมบัติทางเคมีกายภาพเหมือนกันในสภาพแวดล้อมที่ไม่เป็นไครัล ตัวอย่างสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น จุดหลอมเหลว ค่า pKa การละลาย ความเป็นกรดเบส การทำปฏิกิริยาเคมีที่ไม่ใช่สารที่เป็นไครัล และอื่นๆ แต่สิ่งที่แตกต่าง คือ สมบัติในการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ โดยอีนันทิโอเมอร์ตัวหนึ่งหมุนระนาบแสงไปทิศหนึ่ง อีกตัวจะหมุนในทิศตรงข้าม จากการจัดวางตัวของโครงสร้างในเชิง 3 มิติของยาอีนันทิโอเมอร์ที่ต่างกันนี้ ส่งผลให้การออกฤทธิ์ยาแตกต่างกัน ตัวอย่างยาที่มีการวางตัวของโครงสร้าง 3 มิติที่ต่างกัน แล้วส่งผลต่อการออกฤทธิ์และพิษที่ต่างกัน เช่น ยา thalidomide ใช้สำหรับรักษาอาการแพ้ท้องของสตรีมีครรภ์ เริ่มจำหน่ายในท้องตลาดแถบยุโรป สหรัฐอเมริกา ในช่วงปี พ.ศ. 2498-2503 มีฤทธิ์เป็นยาคลายกังวล และทำให้ง่วงนอน ช่วยลดอาการแพ้ท้อง ซึ่งพบอุบัติการณ์คลอดทารกที่มีความผิดปกติ พิการ ถึงกว่า 2,000 ราย⁶ และในปี พ.ศ.2505 ได้มีการถอนตัวยานี้ให้มีการจำหน่ายในประเทศต่างๆ ทั่วโลก จากเหตุการณ์ที่สำคัญครั้งนี้องค์การวิจัยยาและพัฒนาฯ ได้ตระหนักถึงความสำคัญของความปลอดภัยของยาก่อนให้ผู้ป่วยได้รับยาในภายหลังพบว่า thalidomide เป็นยาไครัลชนิดหนึ่งที่มีรูปแบบไครัล ซึ่งเป็นคู่อีนันทิโอเมอร์ที่แตกต่างกันส่งผลต่อการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันมาก โดยยาในรูปแบบ (R)-enantiomer เป็นรูปแบบที่ออกฤทธิ์แก้แพ้ แก้เมารถ แต่รูปแบบ (S)-enantiomer กลับเป็นสารต้นเหตุให้เกิดทารกวิรูป (teratogen) (รูปที่ 4)⁷



รูปที่ 4 ปฏิกริยาผันกลับของ (R)-(+)-Thalidomide และ (S)-(-)-Thalidomide ในกระบวนการ racemization

นอกจากนี้ยังมีตัวยาจำนวนมากที่รูปแบบสเตอริโอเคมีของยามีผลต่อการออกฤทธิ์ในการรักษา ซึ่งผลอาจเป็นชนิดที่คู่อิแนนท์โอเมอร์ไม่กระทบต่อผลการรักษา มีฤทธิ์ในการรักษาที่คล้ายกัน มีผลข้างเคียง อาการไม่พึงประสงค์ หรือคู่อิแนนท์โอเมอร์ช่วยเสริมประสิทธิภาพในการรักษา ในตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างยาไครัลที่มีรูปแบบที่ทำให้ผลการรักษาและรูปแบบที่อาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์⁸

ตารางที่ 1 อีแนนท์โอเมอร์ของยาในรูปแบบที่ให้ผลการรักษา และรูปแบบที่อาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์

ยา	รูปแบบที่พบข้อบ่งใช้ในการรักษา	รูปแบบที่พบอาการไม่พึงประสงค์ในการรักษา	เอกสารอ้างอิง
Ketamine	S-(+)-Ketamine ใช้เป็นยาระงับปวด	R-(-)-Ketamine ทำให้เกิดอาการภาวะหลอน (hallucination) กระวนกระวายใจ (agitation)	9
Naproxen	(S)-Naproxen ใช้เป็นยาระงับปวด	(R)-Naproxen เป็นพิษต่อตับและไม่มีฤทธิ์ระงับปวด	10
Ethambutol	(S,S)-Ethambutol รักษาวัณโรค	(R,R)-Ethambutol เป็นเหตุให้ตาบอด	11
Penicillamine	(S)-Penicillamine รักษาโรคข้ออักเสบ (arthritis)	(R)- Penicillamine เป็นพิษ เช่น เกิดภาวะมีโปรตีนในปัสสาวะ (proteinuria)	12

ปัจจุบันในท้องตลาดมีความพยายามในการพัฒนายาจากรูปแบบผสมราซีเมต ผลิตเป็นรูปแบบอีแนนท์โอเมอร์เดี่ยว เรียกว่า “chiral switch” ตัวอย่างยาจำหน่ายในรูปอีแนนท์โอเมอร์รูปเดี่ยวบริสุทธิ์ แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ยาที่จำหน่ายในรูปอีแนนท์โอเมอร์รูปเดี่ยวบริสุทธิ์ (enantiopure)¹³

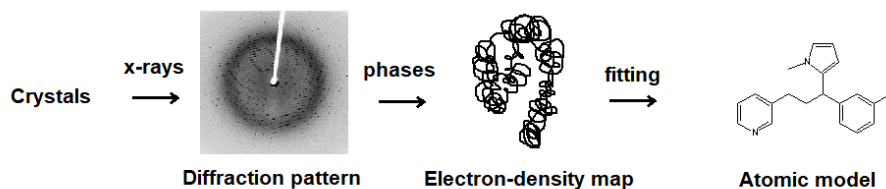
ยา	ข้อบ่งใช้	ปีที่เริ่มจำหน่าย (ประเทศที่เริ่มจำหน่าย)
(S)-(-)-Ofloxacin (Levofloxacin)	Antimicrobial agent	1995 (ญี่ปุ่น)
(S)-(+)-Ibuprofen (Dexibuprofen)	Anti-inflammatory	1994 (ออสเตรเลีย)

ยา	ข้อบ่งใช้	ปีที่เริ่มจำหน่าย (ประเทศที่เริ่มจำหน่าย)
(S)-(+)-Ketoprofen (Dexketoprofen)	Anti-inflammatory	1998 (ประเทศแถบยุโรป)
(S)-(-)-Bupivacaine (Levobupivacaine)	Local anesthesia	2000 (สหรัฐอเมริกา)
(S)-(-)-Leucovorin (Levoleucovorin)	Rescue after high-dose methotrexate therapy;	2008 (สหรัฐอเมริกา)
(S)-(-)-Omeprazole (Esomeprazole)	Proton pump inhibitor	2000 (ประเทศแถบยุโรป) 2001 (สหรัฐอเมริกา)
(R)-(-)-Salbutamol (Levalbuterol)	β 2-agonist	1999 (สหรัฐอเมริกา)
(R)-(-)-Cetirizine (Levocetirizine)	Antihistamine	2001 (ประเทศแถบยุโรป) 2007 (สหรัฐอเมริกา)
(R,R) - (+) - Methylphenidate (Dexmethylphenidate)	Attention- deficit hyperactivity disorder	2001 (ประเทศแถบยุโรป)
(S)-(+)-Citalopram (Escitalopram)	Selective serotonin re- uptake inhibitor	2001 (ประเทศแถบยุโรป) 2002 (สหรัฐอเมริกา)

เทคนิคที่ใช้ประเมินตรวจหาสารที่มีสมบัติเป็นสารไครัล¹⁴

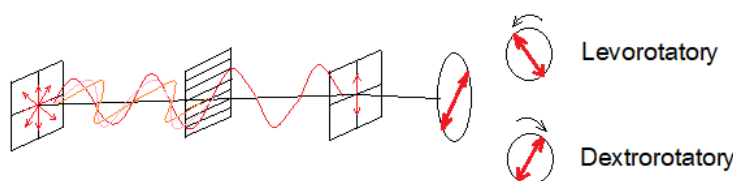
จากสมบัติทางเคมีกายภาพที่เป็นลักษณะเฉพาะของยา ใช้ช่วยทำนายการดูดซึม การกระจาย การเปลี่ยนแปลง และการกำจัดยา รวมไปถึงการออกฤทธิ์ต่อร่างกายได้ และเนื่องจากการจัดวางตัวของโครงสร้างในเชิง 3 มิติของยาไอแนนทีโอเมอร์ที่ต่างกันนี้ ส่งผลให้การออกฤทธิ์ยาแตกต่างกัน ดังนั้นผู้ผลิตยาที่เป็นยาไครัลและมีรูปแบบผสมราซีเมตที่มีไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์ต่างกันจึงพยายามแยกให้ได้สารไอโซเมอร์บริสุทธิ์เพียงตัวเดียวนำมาผลิตเป็นยาเพื่อลดผลข้างเคียงหรือเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของยานั้น⁵ ในงานวิจัยหรือการผลิตสารไครัลให้ได้สารสเตอริโอเคมีรูปเดียวบริสุทธิ์ มีเทคนิคที่ใช้ตรวจหาสารไครัลหลายวิธี ตัวอย่างเทคนิคต่างๆ เช่น

1. **X-ray crystallography** เป็นเทคนิคที่น่าเชื่อถือมากที่สุด ใช้ตรวจดูรูปร่าง 3 มิติของโครงสร้างโมเลกุลในผลึก แต่มีข้อจำกัดที่โครงสร้างควรประกอบด้วยอะตอมหนักอย่างน้อย 1 อะตอม (เลขอะตอมมากกว่า 23) และต้องได้ผลึกที่มีขนาดใหญ่เป็นชิ้นเดียวของไอแนนทีโอเมอร์นั้น มีหลักการ คือ เกิดการเลี้ยวเบน (diffraction) ของรังสีเอ็กซ์จากวัตถุผลึกที่มีการจัดวางตัวเป็นระเบียบและนำข้อมูลมารวบรวมและสร้างเป็นแผนที่ความหนาแน่นอิเล็กตรอน (electron density map) นำข้อมูลมาประมวลเป็นตำแหน่งอะตอมและแปลผลเป็นโครงสร้างที่เป็นไปได้ของโมเลกุล (รูปที่ 5)¹⁵



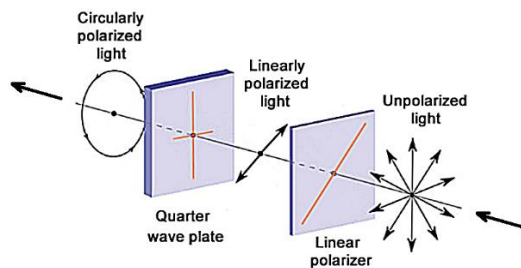
รูปที่ 5 กระบวนการทำ x-ray crystallography (ภาพดัดแปลงจาก https://www.wikiwand.com/en/X-ray_scattering_techniques)

2. **Polarimeter** เป็นเครื่องที่วัดการหมุนระนาบของแสงโพลาไรซ์ของสาร โดยอาศัยหลักการที่สารคูอีนานทิโอเมอร์จะมีการหมุนระนาบของแสงโพลาไรซ์ต่างกัน สารที่สามารถหมุนระนาบแสงตามเข็มนาฬิกา เรียก “dextrorotatory หรือ +” ส่วนสารที่หมุนระนาบแสงทวนเข็มนาฬิกา เรียก “levorotatory หรือ -” (รูปที่ 6) รายละเอียดของเครื่องวัดนี้แสดงในหัวข้อ “optical rotation และ specific rotation” ที่จะกล่าวถึงเป็นลำดับถัดไป



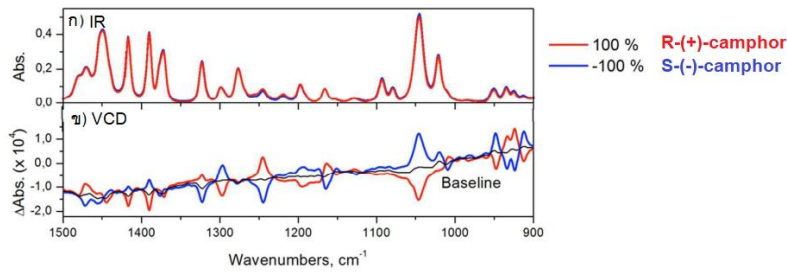
รูปที่ 6 การหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ในทิศหมุนแสงไปทางขวา และหมุนระนาบแสงไปทางซ้าย

3. **Vibrational circular dichroism (VCD)**¹⁶ เป็นวิธีที่ใช้คลื่นพลังงานในย่านอินฟราเรด (infrared; IR) ช่วยแยกลักษณะของคูอีนานทิโอเมอร์ การจัดวางโครงสร้างของสาร ดูร้อยละของคูอีนานทิโอเมอร์ เทคนิคนี้ใช้หลักการหมุนแสงโพลาไรซ์โดยหมุนแสงที่เป็นโพลาไรซ์ให้เป็นวง (รูปที่ 7) ทำให้คลื่นพลังงานส่งไปที่โครงสร้างในลักษณะ 3 มิติ จึงตรวจสอบโครงสร้างได้ทำให้เห็นสเปกตรัมที่ต่างกันระหว่างอีนานทิโอเมอร์



รูปที่ 7 แสงโพลาไรซ์ที่หมุนเป็นวงกลม¹⁷

เมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของเครื่องอินฟราเรด พบว่าเทคนิค IR ไม่แสดงความแตกต่างของโครงสร้างที่เป็นคูอีนานทิโอเมอร์ แต่สเปกตรัมจากเทคนิค VCD เห็นความแตกต่างของโครงสร้างอีนานทิโอเมอร์ในมุมมอง 3 มิติที่ต่างกันได้ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 สเปกตรัมอินฟราเรด (IR) (ก) และ สเปกตรัม VCD (ข) ของ R-(+)-camphor และ S-(-)-camphor¹⁸

4. **Enantioselective chromatography** (HPLC^a, SFC^b, CE^c และ UHPLC^d) เป็นเทคนิคที่อาศัยคอลัมน์ไครัล(chiral stationary phase, CSPs) เป็นตัวแยก โดยคอลัมน์นี้บรรจุตัวค้ำจุนที่มีสมบัติเป็นไครัล ทำให้เมื่อสารผสมที่เป็นไครัลผ่านตัวค้ำจุนนี้ คู่ไอแนนทิโอเมอร์จะเกิดอันตรกิริยาระหว่างพันธะในคอลัมน์กับโมเลกุลแตกต่างกัน ทำให้ผ่านออกจากคอลัมน์ในเวลาที่แตกต่างกัน จึงสามารถแยกคู่ไอแนนทิโอเมอร์ได้

5. **Chiral mobile phase additives (CMPAs) หรือ chiral solvating agent (CSA)** เป็นสารที่เป็นไครัลเติมลงในตัวทำละลายของวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือตัวทำละลายในเอ็นเอ็มอาร์ (NMR^e) ทำให้สภาพแวดล้อมเป็นไครัลแทน ดังนั้นจึงสามารถแยกสารไครัลได้ เทคนิคนี้ใช้ได้กับโครมาโทกราฟี และ นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ หรือเรียกย่อๆว่า เอ็นเอ็มอาร์ NMR

5.1 โครมาโทกราฟี: CMPAs ที่นิยม เช่น Mosher's reagent เป็นสาร α -methoxy-trifluoromethylphenylacetic acid (MTPA) วิธีนี้ มีประโยชน์ที่ใช้งานได้หลากหลาย ราคาถูก ไม่ต้องใช้คอลัมน์ชนิดไครัลซึ่งมีราคาแพง

5.2 เอ็นเอ็มอาร์: เติมสารช่วย chiral solvating agent (CSA) ลงในตัวทำละลายเอ็นเอ็มอาร์ทำให้สภาพแวดล้อมของไอแนนทิโอเมอร์เป็นไครัล จึงแยกความแตกต่างสารจากกันได้

6. **Chiral derivatization reagents (CDRs)** ยาไครัลบางชนิดมีสมบัติทางโครมาโทกราฟีต่อ chiral stationary phase (CSP) มีสัญญาณอ่อน ดังนั้นจึงต้องสังเคราะห์ดัดแปลงยาเพื่อเพิ่มสัญญาณ CDRs เป็นสารที่ไปทำปฏิกิริยากับตัวยาไอแนนทิโอเมอร์ก่อนทำให้สารเปลี่ยนไปเป็นมีสมบัติต่างกัน จึงแยกสารออกจากกันได้ง่ายขึ้น

6.1 โครมาโทกราฟี โดยทั่วไปมักดัดแปลงให้ได้สารที่ความมีขั้วของโมเลกุลลดลง และเพิ่มมวลเพื่อป้องกันการถูกชะล้างออกไปพร้อมสารมีขั้วอื่นๆ ของร่างกาย เช่น พลาสมา ปัสสาวะ เป็นต้น

6.2 เอ็นเอ็มอาร์ เช่น สารตัวอย่างที่เป็นไอแนนทิโอเมอร์กับปฏิกิริยากับสารไอแนนทิโอเมอร์บริสุทธิ์ที่ทราบโครงสร้างแน่นอน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างเป็นไดแอสเทอริโอเมอร์ส่งผลให้แสดงค่าที่ตำแหน่งต่างกัน ตัวอย่าง สาร α -Methoxy-trifluoromethylphenylacetic acid (MTPA) เป็น derivatizing reagent ที่นิยมใช้ตรวจหารูปร่างของสารประเภทแอลกอฮอล์

^a HPLC = High Performance Liquid Chromatography

^b SFC = Supercritical fluid

^c CE = Capillary electrophoresis

^d UHPLC = Ultrahigh performance liquid chromatography

^e NMR = Nuclear Magnetic Resonance

การควบคุมคุณภาพของยา

ผลิตภัณฑ์ยาในท้องตลาดที่มีสารไอโอมอร์ฟิซึมแบบเดียวกัน มีแนวโน้มที่จะมีประโยชน์ในแง่ต่างๆ เช่น มีเภสัชพลศาสตร์ และเภสัชจลนศาสตร์ที่จำเพาะไม่ซับซ้อน มีแนวโน้มที่จะมีดัชนีการรักษา (therapeutic index) ที่ดีขึ้นเนื่องจากมีความแรง ความจำเพาะเจาะจงเพิ่มขึ้น มีผลข้างเคียงน้อยลง ลดการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา (drug interaction) ดังนั้นวัตถุดิบตัวยาคัญที่นำมาผลิตเป็นยาสำเร็จรูปต้องมีการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบยา ก่อนผลิตเป็นยาสำเร็จรูปจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภคต่อไป^{19,20}

ปัจจุบันเภสัชตำรับที่ประกาศใช้ในประเทศไทย ไม่ว่าจะเป็น USP, BP, EP, JP, TP ในใบรับรองผลการวิเคราะห์ (certificate of analysis; COA) ของบริษัทผู้ผลิตต่างๆ เช่น วัตถุดิบ ยาสำเร็จรูป ตระหนักถึงความสำคัญ และมีการแสดงผลการควบคุมคุณภาพ หัวข้อการตรวจสอบคุณภาพที่เกี่ยวข้องกับการจัดวางตัวของโครงสร้างมีปรากฏในหัวข้อต่างๆ ของเภสัชตำรับ เช่น หัวข้อ “optical rotation” “assay” และ “enantiomer purity”

ก. Optical rotation และ specific rotation²⁰

จากที่กล่าวข้างต้น ยาไอโอมอร์ฟิซึมทั้งสองรูปแบบจะมีสมบัติทางเคมีกายภาพเหมือนกันในสภาพแวดล้อมที่ไม่เป็นไครัล สมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น จุดหลอมเหลว ค่า pKa การละลาย และอื่นๆ แต่สิ่งที่แตกต่างกัน คือ สมบัติในการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ โดยไอโอมอร์ฟิซึมตัวหนึ่งหมุนแสงไปทิศหนึ่ง อีกตัวจะหมุนในทิศตรงข้าม โดยดูจากค่า “optical rotation” หรือ “specific rotation” สารที่สามารถหมุนแสงตามเข็มนาฬิกา เรียก “dextrorotatory หรือ +” ส่วนสารที่หมุนแสงทวนเข็มนาฬิกา เรียก “levorotatory หรือ -” ดังที่เคยกล่าวข้างต้น แต่เดิมเรียกการหมุนนี้โดยใช้อักษรย่อ “d- และ l-” แต่ปัจจุบันระบบนี้ได้ยกเลิกเพื่อลดการสับสนกับคำว่า “D- และ L-” ซึ่งเป็นระบบที่บอกถึงการจัดวางของโมเลกุลน้ำตาล D-glyceraldehyde ส่วนอักษร R, S และ α , β ใช้บอกถึงการวางตัวของหมู่ต่างๆ ในพื้นที่ว่างของโครงสร้างโมเลกุล ซึ่งกำหนดจากการมองและนับหมู่ต่างๆ ของโครงสร้าง แตกต่างจากค่าการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ที่ต้องวัดจากเครื่อง polarimeter จึงได้ค่าเฉพาะออกมา ค่า optical rotation เป็นค่าที่วัดจากแสงที่ความยาวคลื่นและอุณหภูมิที่กำหนด คำนวณได้จากสูตรข้างล่าง

$$\text{Optical rotation: } [\alpha]_{\lambda}^t = \frac{100a}{lc}$$

โดย λ คือ ความยาวคลื่น (นาโนเมตร), t คือ อุณหภูมิขณะทดลอง นิยมวัดองศาเซลเซียส, α คือ มุมของการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ ($^{\circ}$ องศา), l คือ ระยะทางที่แสงผ่านสารตัวอย่างที่วัด หน่วยเดซิเมตร ปกติหลอดที่ใช้คือ 1 เดซิเมตร, c คือความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ในรูปกรัมในสารละลาย 100 มิลลิลิตร (เช่นสารตัวอย่าง 2 กรัมใน 100 มิลลิลิตร ค่า C = 2)

ทั้งนี้เนื่องจากในสมัยก่อนเครื่องที่วัด optical rotation อาศัยสายตาเทียบความเข้มของแสงที่แยกตัวออก ซึ่งทำให้แต่ละห้องปฏิบัติการอาจวัดค่าแตกต่างกัน ปัจจุบันจึงใช้แสงจากหลอดโซเดียมซึ่งให้ความยาวคลื่นมาตรฐานที่ 589 นาโนเมตร และทำการวัดที่ 20 หรือ 25 องศาเซลเซียส จึงได้กำหนดเป็นค่า specific rotation ซึ่งทำให้มีมาตรฐานเท่ากันในแต่ละห้องปฏิบัติการมากยิ่งขึ้น ในเภสัชตำรับจึงมักกำหนดค่ามาตรฐานเป็น specific rotation ในตัวทำละลายที่กำหนด มากกว่าค่า optical rotation ซึ่งค่านี้จะมีสัญลักษณ์ตั้งสมการข้างล่างนี้ และตัวอย่างยาที่กำหนดค่า specific rotation แสดงในตารางที่ 3

Specific rotation: $[\alpha]_D^{25}$ หรือ $[\alpha]_D^{20}$

ตารางที่ 3 ค่า specific rotation ของวัตถุดิบยา²⁰

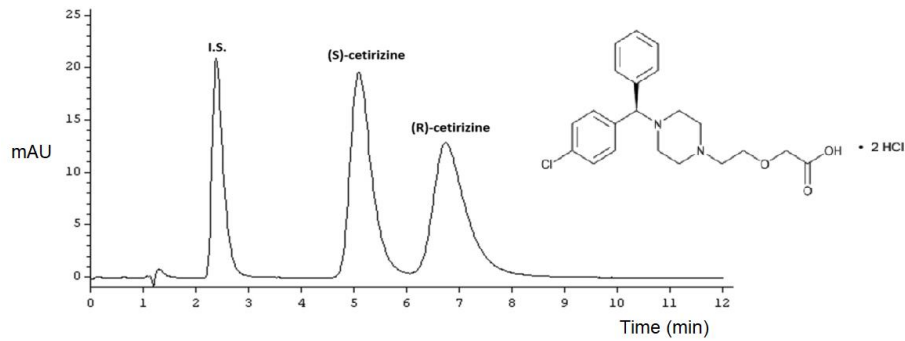
วัตถุดิบยา	ค่า specific rotation ที่ 589 nm
Acetylcysteine	+21° to +27° (25° C)
Ascorbic acid	+20.5° to +21.5° (25° C)
Azithromycin	-45° to -49° (20° C)
Brompheniramine maleate	-0.2° to +0.2° (20° C)
Dexchlorpheniramine maleate	+39.5° to +43.0° (25° C)
Levofloxacin	-92° to -106° (20° C)
Levodopa	-160° to -167° (25° C)
Perindopril erbumine	-66° to -69° (20° C)

ข. หัวข้อ Assay และ หัวข้อ Enantiomer purity

เป็นหัวข้อเกี่ยวกับการวิเคราะห์การแยกสารอีนานทิโอเมอร์ เช่น แยก *S*- และ *R*- enantiomer ออกจากกันเพื่อหาปริมาณสารอีนานทิโอเมอร์รูปแบบเดียวๆ ในตัวอย่างสารวิเคราะห์ และใช้ตรวจสอบหาความบริสุทธิ์ของยาว่ามีปริมาณสารอีนานทิโอเมอร์รูปแบบเดียวๆ ปนในตัวอย่างสารวิเคราะห์หมากน้อยเพียงใด

ตัวอย่างที่ 1 การวิเคราะห์ Levofloxacin (*S*-ofloxacin) ในหัวข้อ assay²⁰ กำหนดให้มี *D*-ofloxacin (*D*-isomer) ไม่เกิน 1.0% ใน USP วิเคราะห์โดยการทำให้ HPLC ซึ่งบัฟเฟอร์คือ d-phenylalanine และ copper(II)sulfate pentahydrate ในน้ำ ทำให้สถานะในวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นไครัลจึงแยกคู่สารอีนานทิโอเมอร์ได้

ตัวอย่างที่ 2 การวิเคราะห์ levocetirizine dihydrochloride USP39-NF34 มีการตรวจสอบหัวข้อ enantiomeric purity กำหนดค่าการยอมรับ (acceptance criteria) ต้องมี *S*-enantiomer ไม่มากกว่า 1.0% ของตัวยา ตามเภสัชตำรับกำหนดให้แยกโดยใช้คอลัมน์ชนิดไครัลซึ่งบรรจุตัวค้ำจุนที่ทำจากเซลลูโลส ทำให้สามารถตรวจสอบสารที่เป็น (*R*)- และ (*S*)-enantiomer ออกจากกันได้ ซึ่งในงานวิจัยหนึ่งได้แสดงโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์แยกสารอีนานทิโอเมอร์ (*R*)- และ (*S*)-enantiomer ออกจากกัน ดังรูปที่ 9²¹



รูปที่ 9 โครมาโทแกรมของการแยกสาร (R)- และ (S)-cetirizine ด้วยเครื่อง HPLC²¹

บทสรุป

ยาไครัลจัดว่าเป็นยาที่เข้ามามีบทบาทมากขึ้นและมีจำนวนจำหน่ายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในตลาดยาของเมืองไทย การควบคุมคุณภาพในตัวอย่างวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ยาสำเร็จรูปจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง ซึ่งการวิเคราะห์ยาไครัลโดยทั่วไปตรวจหาค่า optical rotation หรือ specific rotation ในวัตถุดิบยา ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณยาทั้งในวัตถุดิบยาและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปนั้นมีหลายเทคนิคแต่เทคนิคที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือวิธีโครมาโทกราฟี โดยอาศัยเทคนิคคอลัมน์ไครัล และเทคนิคเติมสารที่เป็นไครัลเพื่อปรับสภาวะในการแยกสารที่เป็นอิมแพนทิโอเมอร์ออกจากกัน ซึ่งมีการกำหนดค่าเกณฑ์ยอมรับที่ชัดเจน หากตัวยามีค่าเกินเกณฑ์การยอมรับของเภสัชตำรับย่อมแสดงถึงคุณภาพที่ไม่เข้าเกณฑ์มาตรฐาน ย่อมส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพ ความปลอดภัยที่ผู้ป่วยพึงจะได้รับต่อไป ดังนั้นในฐานะเภสัชกรไม่ว่าจะมีบทบาทในอุตสาหกรรมโรงงาน โรงพยาบาล ร้านยา และอื่นๆ ควรเข้าใจและตระหนักถึงความสำคัญของการวิเคราะห์คุณภาพของยาไครัลที่แสดงไว้ในใบรับรองผลการวิเคราะห์ (certificate of analysis, COA) ของตัวยานั้น ๆ

เอกสารอ้างอิง

1. Landoni MF, Soraci A. Pharmacology of chiral compounds: 2-Arylpropionic acid derivatives. *Current Drug Metabolism*. 2001; 2 (1): 37-51.
2. Patocka J, Dvorak A. Biomedical aspects of chiral molecules. *Journal of Applied Medicine*. 2004; 2: 95-100.
3. Davies NM, Teng XV. Importance of chirality in drug therapy and pharmacy practice. Implication for psychiatry. *Advances in Pharmacy*. 2003; 1 (3): 242-252.
4. Cahn RS, Ingold Ck, Prelog V. The specification of asymmetric configuration in organic chemistry. *Experienta*. 1956; 12: 81-12
5. Nguyen LA, He H, Pham-Huy C. Chiral Drugs: An Overview. *International journal of Biomedical science* 2006; 2(2): 85-100.
6. Lenz W. Thalidomide and congenital anomalies. *Lancet* 1962; 279(7219): 45
7. Vargesson N. Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today*: 2015; 105(2): 140–156.
8. Sekhon BS. Exploiting the power of stereochemistry in drugs: An overview of racemic and enantiopure drugs. *Journal of Modern Medicinal Chemistry*, 2013, 1, 10-36
9. Paul R, Schaaff N, Padberg F, Möller H-J and Frodl T. Comparison of racemic ketamine and S-ketamine in treatment-resistant major depression: Report of two cases. *The World Journal of Biological Psychiatry* 2009; 10(3): 241–244.
10. Ximenes VF, Morgon NH and Robinson de Souza A. Solvent-dependent inversion of circular dichroism signal in naproxen: An unusual effect! *Chirality*. 2018; 30(9): 1049-1053.
11. de Souza MV, Ferreira ML, Pinheiro AC, Saraiva MF, de Almeida MV, Valle MS. Synthesis and biological aspects of mycolic acids: an important target against Mycobacterium tuberculosis. *Scientific World Journal* 2008: 31 (8); 720-51.
12. Walshe JM. Chirality of penicillamine. *Lancet*. 1992; 339 (8787): 254.
13. Calcaterra A, Acquarica LD. The market of chiral drugs: Chiral switches versus de novo enantiomerically pure compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018: 147; 323-340.
14. Mane S. Racemic drug resolution: a comprehensive guide. *Analytical Methods* 2016; 8(42), 7567–7586.
15. Picknett, TM, Brenner S. X-Ray Crystallography. *Encyclopedia of Genetics* 2001; 2154.

16. Feedman TB, Cao X, Dukor RK and Nafle LA. Absolute configuration determination of chiral molecules in the solution state using vibrational circular dichroism. *Chirality* 2003; 15: 743-758.
17. Cronin TW. A different view: sensory drive in the polarized-light realm. *Current Zoology* 2018; 64(4): 513–523.
18. Quesada-Moreno MM, Virgili A, Monteagudo E, Claramunt RM, Avilés-Moreno JR, López-González, JJ, Alkorta I, Elguero J. Vibrational circular dichroism (VCD) methodology for the measurement of enantiomeric excess in chiral compounds in solid phase and for the complementary use of NMR and VCD techniques in solution: the camphor case. *The Analyst* 2018; 143(6): 1406–1416.
19. Hutt AJ, Valentova J. Chiral switch: Pure enantiomers of drugs instead of racemic mixtures. *Ceská a Slovenská farmacie: casopis České farmaceutické společnosti a Slovenské farmaceutické společnosti* 2004; 53: 285-93.
20. The United States Pharmacopoeia – The National Formulary 39th edition (USP39 – NF34), United States Pharmacopoeial Convention, Madison, 2016.
21. Chmielewska A, Konieczna L and Baczek T. A novel two-step liquid-liquid extraction procedure combined with stationary phase immobilized human serum albumin for the chiral separation of cetirizine enantiomers along with M and P Parabens. *Molecules* 2016, 21(12), E1654