

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณแคนนาบิไดออล (CBD) ในตำรับยาครีม 1% ซีบีดี ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

โสภิต บุชยะจารุ, ภ.บ.

กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร
ผู้นิพนธ์หลัก e-mail: sopita.ahe@gmail.com

เกษรา ศรีไพโรจน์, ภ.บ.

สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
e-mail: katsara5150@gmail.com

วารสารเภสัชกรรมคลินิก. 2568;31(2):201-13.

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศรมีการพัฒนาตำรับยาครีม 1.0% w/w แคนนาบิไดออล (CBD) สำหรับใช้ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินและโรคผิวหนังอักเสบ ดังนั้น จึงมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ที่มีความแม่นยำและน่าเชื่อถือเพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์

วัตถุประสงค์: เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ในตำรับยาครีม 1.0% w/w CBD ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

วิธีการศึกษา: วิเคราะห์หาปริมาณ CBD ในตำรับยาครีมด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้คอลัมน์ NexLeaf CBX for Potency (C18) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร วัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วย 0.085% orthophosphoric acid ใน deionized water และ 0.085% orthophosphoric acid ใน acetonitrile ในอัตราส่วนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการวิเคราะห์ (gradient elution) อัตราการไหล 1.6 มิลลิลิตร/นาที การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์จะประเมินในหัวข้อ การทดสอบความเหมาะสมของระบบ (system suitability) ความจำเพาะเจาะจง (specificity) ความเป็นเส้นตรง (linearity) ช่วงความเข้มข้น (range) ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ตามแนวทางของ ICH Q2(R1)

ผลการศึกษา: วิธีวิเคราะห์หาปริมาณที่พัฒนาขึ้นแสดงความจำเพาะเจาะจงในการแยก CBD โดยไม่มีสัญญาณรบกวนจากส่วนประกอบอื่นในสูตรตำรับยาครีม โดยมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($R^2 = 0.9999$) ความแม่นยำรายงานในค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 98.5-101.2% และความเที่ยงรายงานในค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ต่ำกว่า 1% ทั้งในการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) และระหว่างวัน (inter-day precision) เมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นตรวจวิเคราะห์ตำรับยาครีม 1.0% CBD จำนวน 2 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณ CBD ที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 1.1023% และ 1.1918% w/w

สรุปผล: วิธีวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ในตำรับยาครีม 1.0% CBD ด้วยเทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้นเป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานสากลสำหรับการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ยา มีความแม่นยำ เที่ยงตรง และน่าเชื่อถือ สามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาครีม CBD ได้

คำสำคัญ: แคนนาบิไดออล (CBD); โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง; ยาครีม CBD; การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

Received: 18 Apr 2025, Revised: 11 Jun 2025, Accepted: 12 Jun 2025

The Development of Analytical Method Validation of HPLC Method for Determination of Cannabidiol (CBD) in a 1% CBD Cream

Sopit Bushyacharu, B.Pharm.

Pharmacy Department, Chao Phya Abhaibhubejhr Hospital

Corresponding author e-mail: sopit.ahe@gmail.com

Katsara Sripairoj, B.Pharm.

Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences

e-mail: katsara5150@gmail.com

Thai J Clin Pharm. 2025;31(2):201-13.

Abstract

Background: Chao Phya Abhaibhubejhr Hospital has developed a 1.0% w/w cannabidiol (CBD) cream formulation for use in patients with psoriasis and dermatitis. Therefore, developing an accurate and reliable analytical method for CBD quantification is essential for product quality control.

Objective: To develop and validate a quantitative analytical method for CBD in the 1.0% w/w CBD cream formulation using the high-performance liquid chromatography (HPLC) technique.

Methods: The CBD in the cream formulation was analyzed using HPLC. The analysis utilized a NexLeaf CBX for Potency (C18) column maintained at 35°C, with a detection wavelength of 220 nm. A gradient elution of 0.085% orthophosphoric acid in deionized water and 0.085% orthophosphoric acid in acetonitrile was used as the mobile phase, at a flow rate of 1.6 mL/min. System suitability, specificity, linearity, range, accuracy, and precision were evaluated to validate the analytical method in accordance with ICH Q2(R1) guidelines.

Results: The developed quantitative method demonstrated specificity in separating CBD without interference from the cream base. The method showed good linearity in the concentration range of 1–100 µg/mL ($R^2 = 0.9999$). The accuracy, reported as recovery percentage, ranged from 98.5% to 101.2%, and the precision, reported as the relative standard deviation (%RSD), was less than 1.0% for both intra-day and inter-day tests. When the validated method was applied to analyze two samples of the 1.0% CBD cream, the measured CBD concentrations were 1.1023% and 1.1918% w/w.

Conclusion: The developed HPLC method for the quantitative analysis of CBD in the 1.0% w/w cream formulation meets international standards for active pharmaceutical ingredient analysis in terms of accuracy, precision, and reliability. It is suitable for use in quality control of CBD cream products at the hospital level.

Keywords: cannabidiol (CBD); high-performance liquid chromatography (HPLC); CBD cream; analytical method validation

บทนำ

โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร ได้รับมอบหมายให้ผลิตยาคุณภาพทางการแพทย์เพื่อกระจายให้กับสถานพยาบาลอื่นๆ ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั่วประเทศปัจจุบันมีความต้องการใช้ยาที่มีสารแคนนาบินอยด์ (CBD) เพิ่มขึ้น จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า CBD เป็นสารประกอบที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (non-narcotic compound) สกัดได้จากพืชสกุล *Cannabis* คือ กัญชา (marijuana) และกัญชง (hemp) ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้งในการรักษาแบบทั่วร่างกายและแบบเฉพาะที่ผิวหนัง ในปัจจุบัน CBD ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ยาใช้ภายนอกหลายชนิด จากการการศึกษาวิจัยของ Martinez Naya และคณะ (2023) พบว่าฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและกลไกการออกฤทธิ์ของ CBD ที่บริเวณผิวหนัง คือ ลดการอักเสบจากการไปยับยั้งการสร้างไซโตไคน์ที่เป็นสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ช่วยควบคุมการทำงานของซีบัม (sebum regulation) ลดอาการคันและปวดและเสริมสร้างเกราะป้องกันผิว¹ การศึกษาของ Baswan SM D และคณะ (2020) พบว่าในโรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) CBD สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเคราตินocytes ที่ผิดปกติและลดการอักเสบของผิวหนังได้ งานวิจัยในหลอดทดลองพบว่า CBD ลดการผลิตไซโตไคน์อักเสบ เช่น IL-6 และ TNF- α ² การศึกษาของ Puaratanaarunkon T และคณะ (2022) พบว่าครีม CBD ความเข้มข้น 2.5% สามารถลดความรุนแรงของโรคสะเก็ดเงิน โดยมีค่าเฉลี่ยความแตกต่างของคะแนน LPSI (Local Psoriasis Severity Index) ระหว่างด้านที่ทา CBD และด้านที่ทายาหลอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับยาหลอก โดยที่ครีม CBD ช่วยลดทั้งความหนาและพื้นที่โดยรวมของรอยโรค จากผลการศึกษพบว่าครีม CBD ความเข้มข้นในช่วง 0.1-10.0% นั้น พบอาการไม่พึงประสงค์มีความคล้ายคลึงกันในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยครีม CBD และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก ซึ่งบ่งชี้ว่าอาการเหล่านั้นไม่น่าจะเกิดจาก CBD แสดงให้เห็นว่าการใช้ CBD แบบทาโดยทั่วไปมีความปลอดภัย

สำหรับการรักษาโรคสะเก็ดเงิน มีการรายงานอาการไม่พึงประสงค์เพียงเล็กน้อย³

โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร ได้เตรียมและบรรจุยาครีม CBD ความเข้มข้น 1.0% w/w ไว้ในบัญชียาของโรงพยาบาล เพื่อใช้ในการรักษาโรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนังและโรคสะเก็ดเงิน เนื่องจากการผลิตยาภายในโรงพยาบาล ดังนั้น การควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เป็นสิ่งจำเป็น โดยเฉพาะการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณของ CBD อย่างถูกต้องและแม่นยำในตำรับยาครีมที่ผลิตขึ้นถือเป็นหนึ่งในตัวชี้วัดสำคัญด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีวิธีการตรวจสอบได้หลายวิธี เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high-performance liquid chromatography; HPLC) โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงชนิดอัลตรา (ultra-high performance liquid chromatography; UHPLC) โครมาโทกราฟีของเหลวควบคู่กับแมสสเปกโตรเมตรี (liquid chromatography-mass spectrometry; LC-MS/MS) และโครมาโทกราฟีแก๊สควบคู่กับแมสสเปกโตรเมตรี (gas chromatography-mass spectrometry; GC-MS)⁴⁻⁹

อย่างไรก็ตาม ในเภสัชตำรับยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia; THP)¹⁰ ได้มีการกำหนดวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารสกัดกัญชา (cannabis extract) และยาน้ำมันกัญชาหยอดใต้ลิ้น (cannabis sublingual drops) แต่ในส่วนตำรับยา CBD ในรูปแบบยาครีม ยังไม่มีข้อกำหนดวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ทั้งใน THP และ United States Pharmacopeia (USP) ดังนั้น จึงมีความจำเป็นในการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ CBD ในตำรับยาครีม เพื่อให้เกิดความมั่นใจ และมีความน่าเชื่อถือของวิธีการที่พัฒนาขึ้น และต้องมีการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ (analytical method validation) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักในการพัฒนาและตรวจสอบความความใช้ได้ของวิธี HPLC เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ในตำรับยาครีม CBD ความเข้มข้น 1.0% w/w โดยอ้างอิงและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์จากงานวิจัยของ Walter B. Wilson และ Maryam Abdur-Rahman (2022) และ Mara Man-

drioli และคณะ (2019)^{6,7}

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของสาร CBD ในตำรับยาครีม 1.0% w/w

วัสดุและเครื่องมือที่ใช้

วัสดุและสารเคมี

- สารมาตรฐาน CBD ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ (DMSC) Lot. 03A67217 มีความบริสุทธิ์ 99.27%
- Acetonitrile ของ LiChrosolv® Lot. L12920 91330 (HPLC grade)
- เมทานอล ของ LiChrosolv® Lot. L120820 7215 (HPLC grade)
- Orthophosphoric acid 85% ของ Carlo Erba® Lot. 0D318211D (HPLC grade)
- น้ำ deionized water (Type I)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง HPLC ของ Shimadzu รุ่น Prominence-i LC 2030 (ประเทศญี่ปุ่น)
2. วัฏภาคที่อยู่กับที่ (column) ยี่ห้อ NexLeaf CBX for Potency ชนิด C18 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร ยาว 150 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 2.7 ไมโครเมตร
3. เครื่องผสมสาร (vortex mixer) ของ Genie รุ่น VORTEX-2 Digital (ประเทศสหรัฐอเมริกา)

ขั้นตอนการวิจัย

1. การเตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) และสภาวะของ HPLC ที่ใช้

วัฏภาคเคลื่อนที่ A (mobile phase A): 0.085% orthophosphoric acid ใน deionized water เตรียมโดยนำ deionized water ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 2000 มิลลิลิตร ประมาณ 1 ใน 3 ส่วน จากนั้นเติม orthophosphoric acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบ 2000 มิลลิลิตร

วัฏภาคเคลื่อนที่ B (mobile phase B): 0.085% orthophosphoric acid ใน acetonitrile เตรียมโดยนำ acetonitrile ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 2000 มิลลิลิตร ประมาณ 1 ใน 3 ส่วน จากนั้นเติม orthophosphoric acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วย acetonitrile จนครบ 2000 มิลลิลิตร

สภาวะของระบบ HPLC มีการปรับปรุงจากแนวทางในงานวิจัยของ Walter B. Wilson และ Maryam Abdur-Rahman (2022) และงานวิจัยของ Mara Mandrioli และคณะ (2019)^{6,7} โดยมีสภาวะในการวิเคราะห์ดังนี้

วัฏภาคที่อยู่กับที่ (column): NexLeaf CBX for Potency (C18), 2.7µm x 4.6 x 150 mm

ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด: 220 nm

ปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีด: 5 µL

วัฏภาคเคลื่อนที่ A: 0.085% orthophosphoric acid ใน deionized water

วัฏภาคเคลื่อนที่ B: 0.085% orthophosphoric acid ใน acetonitrile

อัตราการไหล: 1.6 mL/min

อุณหภูมิของวัฏภาคที่อยู่กับที่: 35 °C

อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่: อัตราส่วนดังแสดงในตารางที่ 1

2. การเตรียมสารมาตรฐาน cannabidiol (CBD)

ซึ่งสารมาตรฐาน CBD ปริมาณ 10.0 มิลลิกรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล ผสมให้เข้ากันโดย vortex mixer ของ Genie รุ่น VORTEX-2 Digital จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร จากนั้นนำสารละลายมาตรฐาน CBD ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer กรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอนลงในขวดแก้วบรรจุตัวอย่าง จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และใช้สาร-

ตารางที่ 1 อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสารสกัด

Time (min)	Mobile phase A (%) (0.085% orthophosphoric acid ใน deionized water)	Mobile phase B (%) (0.085% orthophosphoric acid ใน acetonitrile)
0.01	30	70
3.00	30	70
7.00	28	72
7.10	5	95
8.00	5	95
8.10	30	70
10.00	30	70

มาตรฐานของ CBD นี้ในการประเมินความเหมาะสมของระบบ (system suitability) โดยการฉีดซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง (injection volume 5 ไมโครลิตร) ตรวจสอบความเหมาะสมของพารามิเตอร์พื้นฐานคือ theoretical plate ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% relative standard deviation; %RSD) ค่าการแพร่ของพีค (tailing factor) และประสิทธิภาพของการแยก (resolution)¹¹ สำหรับการบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของเทคนิค HPLC

3. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์จะทำการทดสอบตามแนวทางของ The International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) guideline Q2(R1) ซึ่งมีแนวทางและข้อแนะนำเกี่ยวกับลักษณะเฉพาะ (characteristics) หรือพารามิเตอร์ (parameters) ของการทดสอบในการวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีที่สำคัญคือ ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (specificity) การทดสอบความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นของข้อมูลและช่วงของการวัด (linearity and range) การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) และการทดสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (precision) ทั้งแบบความเที่ยงแบบทวนซ้ำ (repeatability) และ

ความเที่ยงระหว่างกลาง (intermediate precision)¹³ ตามแนวทางของ ICH Q2(R1)¹²

3.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ ทำโดยวิเคราะห์ตัวอย่างของสารละลายมาตรฐาน CBD ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วัฏภาคเคลื่อนที่ A วัฏภาคเคลื่อนที่ B สารละลายครีมพื้นของตำรับ และเมทานอลที่ใช้เป็นสารละลายสำหรับเจือจาง (diluent) เพื่อตรวจสอบการแยกสารออกจากกันและการรบกวนจากสารอื่น เกณฑ์ในการยอมรับคือต้องไม่ปรากฏพีคสัญญาณของวัฏภาคเคลื่อนที่และสารละลายสำหรับเจือจางที่เวลาการคงอยู่ของสาร (retention time) เดียวกับพีคหลักของสารละลายมาตรฐาน CBD¹⁰

3.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงความเข้มข้น

เตรียมสารละลายมาตรฐาน CBD ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิลิตรใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer เจือจางให้ได้ 7 ความเข้มข้นคือ 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ไมโครกรัม/

มิลลิลิตร กรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ลงในขวดแก้วบรรจุสารละลายตัวอย่าง (HPLC vial) ทั้ง 7 ความเข้มข้น วิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งแต่ละระดับความเข้มข้น นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานพร้อมทั้งหาค่าสมการเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) โดยพิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรงและคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination; R^2) ถ้าค่า R^2 มีค่าเข้าใกล้ 1 มากแสดงถึงความสัมพันธ์ของข้อมูลที่ได้มีความสอดคล้องและน่าเชื่อถือในระดับสูง โดยเกณฑ์การยอมรับ คือ R^2 ต้องมีค่า ≥ 0.995 ¹³

3.3 การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

วิเคราะห์สารละลายครีมพื้นที่เตรียม โดยนำครีมพื้นที่ของตำรับที่ไม่มีส่วนประกอบของ CBD ปริมาณ 10.0 มิลลิกรัมใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล ผสมให้เข้ากันโดย vortex mixer จะได้สารละลายของครีมพื้นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน CBD ที่ 3 ความเข้มข้น คือ 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล ผสมให้เข้ากันโดย vortex mixer กรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดสารละลายตัวอย่างทั้ง 3 ความเข้มข้น แต่ละความเข้มข้นทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง คำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) โดยกำหนดเกณฑ์การยอมรับในช่วง 80-110%¹⁴

3.4 การทดสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

เตรียมสารละลายครีมพื้นที่เติมสารละลายมาตรฐาน CBD ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล ผสมให้เข้ากันโดยเครื่องผสมสาร จากนั้นกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน โดยความเที่ยงแบบทวนซ้ำ คือการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน และทำการทดสอบในวันเดียวกัน ด้วยการวิเคราะห์สารละลายครีมพื้นที่เติมสารละลายมาตรฐาน CBD ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่า %RSD สำหรับความเที่ยง

ระหว่างกลาง คือความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่ทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาที่ต่างวันกัน ด้วยการวิเคราะห์สารละลายครีมพื้นที่เติมสารละลายมาตรฐาน CBD ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 3 ครั้ง ทำติดต่อกัน 2 วัน และคำนวณหาค่า %RSD โดยเกณฑ์การยอมรับความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ทั้งความเที่ยงแบบทวนซ้ำและความเที่ยงระหว่างกลาง (วันที่ 1 และวันที่ 2) จะต้องมียุทธศาสตร์ %RSD ไม่มากกว่า 11%¹⁴

4. การทดสอบวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนากับยาครีม

1.0% w/w CBD

นำวิธีการทดสอบที่พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แล้วมาตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างยาครีม 1.0% w/w CBD จำนวน 2 ตัวอย่าง Lot No. PG0096601 และ PG0096703 โดยชั่งยาครีม 1.0% w/w CBD ปริมาณ 10.0 มิลลิกรัมใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล จนครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer จากนั้นกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ลงในขวดแก้วบรรจุสารละลายตัวอย่าง จนได้สารละลายความเข้มข้นสุดท้าย 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญด้วยเทคนิค HPLC

ผลการวิจัย

1. การทดสอบความเหมาะสมของระบบ

ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบในการวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ที่พัฒนา มีค่าพารามิเตอร์พื้นฐานสำหรับการบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของเทคนิค HPLC ดังแสดงในตารางที่ 2

2. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารสำคัญ CBD ในตำรับยาครีม 1.0% w/w CBD โดยตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะต่าง ๆ ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ ความเป็นเส้นตรง และช่วงความเข้มข้น ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ และความเที่ยงของ

ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ที่ทดสอบความเหมาะสมของระบบวิเคราะห์ CBD

พารามิเตอร์	USP 2021	วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น
Theoretical plate (N)	>2000	6967
Relative standard deviation (%RSD)	<2	0.1833
Tailing factor (T)	≤2	0.8342

วิธีวิเคราะห์ ประเมินการยอมรับได้ดังนี้¹⁴⁻¹⁵

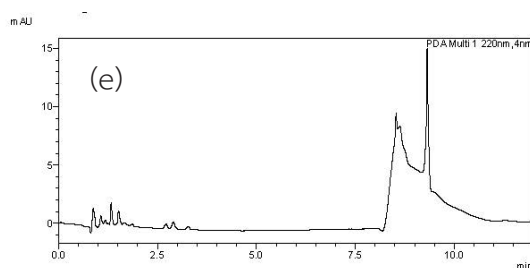
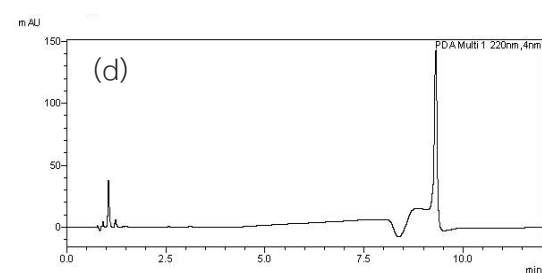
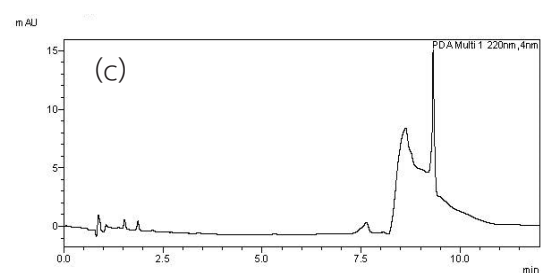
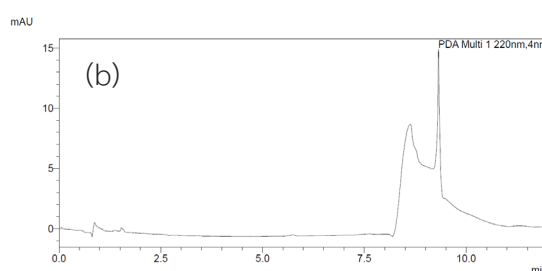
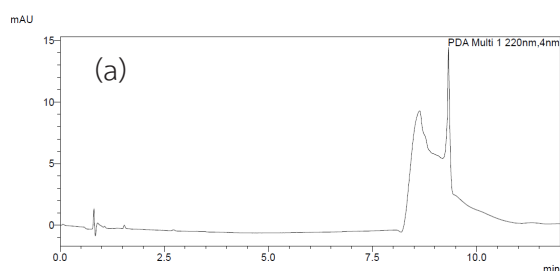
2.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์

การตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ CBD พบว่าโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน ภูมิภาคเคลื่อนที่ทั้ง A และ B สารละลายครีมพื้น และสารละลายสำหรับเจือจาง (diluent)

ไม่มีพีกอื่นใดที่รบกวนพีกของสารละลายมาตรฐานที่ retention time เท่ากับ 3.842 นาที ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์นี้มีความจำเพาะกับสารสำคัญ CBD

2.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงความเข้มข้น

การประเมินความเป็นเส้นตรงของสารละลาย



รูปที่ 1 โครมาโทแกรมของภูมิภาคเคลื่อนที่ A (a) ภูมิภาคเคลื่อนที่ B (b) สารละลายสำหรับเจือจาง (diluent) (c) สารละลายครีมพื้นของตำรับ (d) และสารละลายมาตรฐาน CBD ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (e)

มาตรฐาน CBD ที่ช่วงความเข้มข้น 7 ระดับ ได้แก่ 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ด้วย HPLC ผลการทดสอบแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน CBD กับพื้นที่ใต้กราฟที่ตรวจวัดได้ ดังแสดงในตารางที่ 3

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดีตลอดช่วงความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9999 ซึ่ง

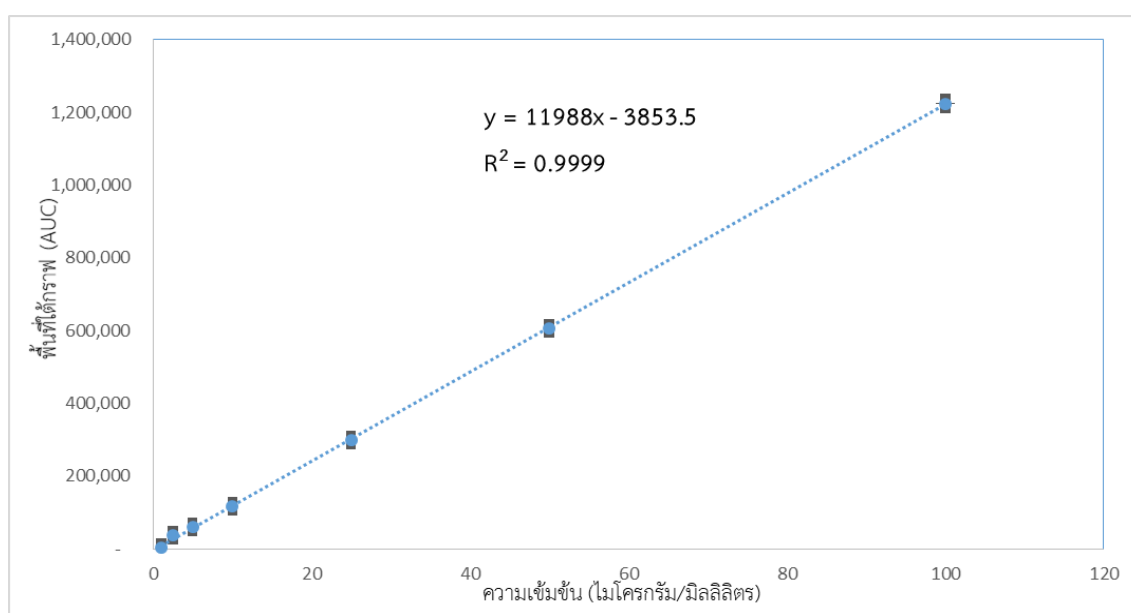
สูงกว่าเกณฑ์การยอมรับที่กำหนดไว้ ($R^2 \geq 0.995$) สมการเชิงเส้นที่ได้คือ $y = 11988x - 3853.5$ ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยที่ค่า y คือพื้นที่ใต้กราฟที่ตรวจวัดได้ และค่า x คือความเข้มข้นของ CBD ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ความสัมพันธ์เชิงเส้นที่แสดงด้วยค่า R^2 ที่ใกล้เคียง 1.0000 นี้ บ่งชี้ถึงความสอดคล้องอย่างสมบูรณ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน CBD กับการตอบสนองของเครื่องมือวิเคราะห์ ยืนยันความน่าเชื่อถือของ

ตารางที่ 3 ค่าพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน CBD ที่ 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตัวอย่าง ที่	พื้นที่ใต้กราฟ						
	1*	2.5*	5*	10*	25*	50*	100*
1	2352	36072	59236	117712	300090	605043	1225373
2	2366	36049	59100	117677	300159	605436	1223440
3	2389	36106	59141	117597	300212	605106	1224164
ค่าเฉลี่ย	2369	36076	59159	117662	300154	605195	1224326
SD	18.6815	28.6764	69.7639	58.9491	61.1746	211.0758	976.5881
%RSD	0.78853	0.079489	0.11793	0.05010	0.020381	0.034878	0.079765

*ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน CBD หน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน Cannabidiol (CBD) กับพื้นที่ใต้กราฟ

วิธีวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์สาร CBD ในช่วงความเข้มข้นที่ศึกษา

2.3 การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์พื้นที่ใต้กราฟและคำนวณค่า %recovery จากการฉีดสารละลายครีมพื้นที่เดิมสารละลายมาตรฐาน CBD ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อย่างละ 3 ตัวอย่าง จากตารางที่ 4 พบว่าความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่า %recovery เท่ากับ 91.9022, 93.3849, 103.3460 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ¹⁴ แสดงถึงความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่วัดได้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด แสดงว่าการวิเคราะห์นั้นมีความถูกต้องสูง

2.4 การทดสอบความเที่ยงแบบทวนซ้ำและความเที่ยงระหว่างกลาง ของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงแบบทวนซ้ำแบบ intra-day precision ผลการทดสอบที่ 3 ความเข้มข้น ทำซ้ำ 3 ครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่าที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/

มิลลิลิตร ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.1477, 0.0838, 0.0279 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ %RSD ไม่มากกว่า 11%

ความเที่ยงระหว่างกลางแบบ inter-day precision ผลการทดสอบที่ 3 ความเข้มข้น ทำซ้ำ 3 ครั้งติดต่อกัน 2 วัน ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่าที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทั้งในวันที่ 1 และวันที่ 2 ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.1663, 0.1031, 0.1386 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับในทุกความเข้มข้น

3. การทดสอบวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนากับยาครีม 1.0 % w/w CBD

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ในยาครีม 1.0% w/w CBD จำนวน 2 ตัวอย่าง เลขที่การผลิต PG0096601 และ PG0096703 โดยปริมาณ CBD ที่วิเคราะห์ได้ มีความเข้มข้นของ CBD ในตำรับเท่ากับ 1.1023% และ 1.1918% w/w คิดเป็นความเข้มข้น 110.23% และ 119.18% ของปริมาณสารสำคัญ CBD ที่ระบุ ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (accuracy)

ความเข้มข้น ของ CBD (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นของ CBD ที่วิเคราะห์ ได้ (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ย ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	SD	%RSD	%Recovery
5	1	4.7057	4.6984	0.0065	0.13757	91.9022
	2	4.6936				
	3	4.6959				
10	1	9.5553	9.5484	0.0077	0.08096	93.3849
	2	9.5498				
	3	9.5401				
25	1	26.4255	26.4173	0.0073	0.02752	103.346
	2	26.4147				
	3	26.4116				

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความเที่ยงจากการวิเคราะห์ความเที่ยงแบบทวนซ้ำ (repeatability)
แบบ intra-day precision

ตัวอย่างที่	พื้นที่ใต้กราฟ		
	5*	10*	25*
1	52559	110696	312935
2	52413	110630	312806
3	52441	110513	312769
ค่าเฉลี่ย	52471	110613	312837
SD	77.4855	92.6769	87.1455
%RSD	0.1477	0.0838	0.0279

*ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน CBD หน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความเที่ยงจากการวิเคราะห์ความเที่ยงระหว่างกลาง (intermediate precision)
แบบ inter-day precision

วันที่	ตัวอย่างที่	พื้นที่ใต้กราฟ		
		5*	10*	25*
1	1	52559	110696	312935
	2	52413	110630	312806
	3	52441	110513	312769
	ค่าเฉลี่ย	52471	110613	312837
	SD	77.4855	92.6769	87.1455
2	1	52309	110417	312310
	2	52367	110441	312068
	3	52357	110449	311894
	ค่าเฉลี่ย	52344.3	110435.7	312091
	SD	31.0054	16.65333	208.924
ค่าเฉลี่ย		52407.7	110524	312464
SD		87.1749	113.9330	432.9580
%RSD		0.16634	0.10308	0.13856

*ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน CBD หน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

อภิปรายผล

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ CBD ในตำรับยาครีม 1.0% w/w CBD ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการศึกษาครั้งนี้ มุ่งพัฒนาวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณสำหรับการตรวจวัด CBD ในตำรับยาครีม 1.0% w/w CBD โดยประยุกต์ใช้เทคนิค HPLC ภายใต้สภาวะที่ได้รับการปรับปรุงจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง^{6,7} โดยเลือกใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายเพื่อให้มีความเหมาะสมกับการสกัดและวิเคราะห์ CBD ของตำรับยาครีม ผลการทดสอบความเหมาะสมของระบบแสดงให้เห็นว่าพารามิเตอร์พื้นฐานที่ได้จากการวิเคราะห์เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับตามที่ระบุใน USP ในส่วนของ general chapter ที่ <621> Chromatography¹¹ ทั้งในด้าน theoretical plate, %RSD และ tailing factor การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่ได้ดำเนินการตามแนวทาง ICH Q2(R1)^{13,15} ซึ่งผลการวิเคราะห์ด้านความเฉพาะเจาะจงพบว่าโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน CBD ที่เวลาการคงอยู่ของสาร (retention time) เท่ากับ 3.842 นาที สามารถแยกออกจากสัญญาณรบกวนอื่น ๆ ได้อย่างชัดเจน การทดสอบความเป็นเส้นตรง แสดงให้เห็นความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดีในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 1–100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9999 การประเมินความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์พบว่าค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ นอกจากนี้ การทดสอบความเที่ยงทั้งแบบ intra-day และ inter-day ให้ค่า %RSD ต่ำกว่า 1 ซึ่งแสดงถึงความเที่ยงที่ดีของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น เมื่อทำการทดสอบวิธีวิเคราะห์

ที่พัฒนากับยาครีม 1.0% w/w CBD จำนวน 2 ตัวอย่าง โดยผลวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ได้ 1.1023% และ 1.1918% w/w

ในการศึกษาวิจัยนี้ การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ แม้จำนวนการทำซ้ำ 3 ครั้งต่อระดับความเข้มข้นจะเพียงพอต่อเกณฑ์ขั้นต่ำตามแนวทาง ICH Q2(R1) และให้ผลที่สอดคล้อง แต่หากเพิ่มจำนวนการทำซ้ำเป็น 5–6 ครั้งต่อระดับความเข้มข้นจะทำให้การประเมินมีความแม่นยำทางสถิติมากขึ้น การคำนวณค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) จะเพิ่มความมั่นใจในความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ และการทดสอบความเที่ยง พบว่าการทดสอบความเที่ยงแบบ inter-day ในงานวิจัยนี้ใช้ระยะเวลา 2 วัน ติดต่อกัน ซึ่งแม้จะอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้ และให้ค่า %RSD ต่ำกว่า 1% ทุกระดับความเข้มข้น แสดงถึงความคงที่ของวิธีวิเคราะห์ แต่เมื่อเทียบกับแนวปฏิบัติของงานวิจัยอื่นที่ใกล้เคียง เช่น Walter B. Wilson และ Maryam Abdur-Rahman (2022) และงานวิจัยของ Mara Mandrioli และคณะ (2019)^{6,7} ซึ่งทำการประเมิน 3 วันติดต่อกัน จะเพิ่มความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ในงานวิจัยและสะท้อนความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้นจากปัจจัยต่าง ๆ ระหว่างวันได้ดีมากขึ้น เมื่อนำวิธีการทดสอบที่พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างยาครีม 1.0% w/w CBD พบว่าอยู่ในช่วง 80.0–120.0% อย่างไรก็ตาม มาตรฐานคุณภาพสำหรับกัญชาทางการแพทย์และสาร CBD ที่กำหนดมาตรฐานใน USP ได้ปรับช่วงปริมาณที่ยอมรับได้ของ CBD จาก 80.0–120.0% เป็น 90.0–110.0% เพื่อยกระดับความปลอดภัย ความสม่ำเสมอ และคุณภาพ

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ CBD ในยาครีม 1% CBD

น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)	ความเข้มข้นของ สารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟ	ความเข้มข้นของ CBD ในสารละลายตัวอย่าง (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของ CBD ในตำรับยาครีม 1% CBD (%w/w)
12.09	1.21	156038	13.3376	1.1023
15.20	1.40	196171	16.6854	1.1918

ของผลิตภัณฑ์กัญชาทางการแพทย์¹⁵

สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพของตำรับยาครีมที่มี CBD เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ได้ถูกนำไปใช้เป็นแนวทางในกระบวนการควบคุมคุณภาพโดยโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร สำหรับการผลิตตำรับยาครีม CBD ความเข้มข้น 1.0% w/w อันเป็นการยกระดับมาตรฐานกระบวนการผลิตให้มีความน่าเชื่อถือและเป็นไปตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวจึงมีนัยสำคัญต่อการรับรองคุณภาพและความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์ยาที่มี CBD เป็นองค์ประกอบ

ข้อเสนอแนะ

แม้ว่าผลการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้

เป็นแนวทางเบื้องต้นได้ แต่จำเป็นต้องดำเนินการศึกษาความเหมาะสม และทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อย่างครบถ้วน รวมถึงการกำหนดช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม เพิ่มจำนวนการทำซ้ำในการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ และเพิ่มจำนวนวันในการทำการประเมินเป็นอย่างน้อย 3 วันติดต่อกันในการทดสอบความเที่ยงแบบ inter-day เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่มีความถูกต้องและความแม่นยำสูงมากขึ้น อันจะส่งผลต่อความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ตามวัตถุประสงค์ ขอขอบพระคุณ ดร.ภญ.สุภาภรณ์ ปิติพร อดีตหัวหน้ากลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร ที่สนับสนุนงานวิจัย องค์ความรู้และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัยในครั้งนี้ และ ดร.ภญ.ผกากรอง ขวัญข้าว สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับแนวคิดในการพัฒนางานสมุนไพร ทำให้งานวิจัยฉบับนี้ลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Martinez Naya N, Kelly J, Corna G, Golino M, Abbate A, Toldo S. Molecular and cellular mechanisms of action of cannabidiol. *Molecules*. 2023;28(16):5980. doi: 10.3390/molecules28165980.
- Baswan SM, Klosner AE, Glynn K, Rajgopal A, Malik K, Yim S, Stern N. Therapeutic potential of cannabidiol (CBD) for skin health and disorders. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2020;13:927-42. doi: 10.2147/CCID.S286411.
- Puaratanaarunkon T, Sittisaksomjai S, Siva-pornpan N, Pongcharoen P, Chakkavittumrong P, Ingkaninan K, et al. Topical cannabidiol-based treatment for psoriasis: a dual-centre randomized placebo-controlled study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;36(9):e718-20. doi: 10.1111/jdv.18215.
- Sarma ND, Waye A, ElSohly MA, Brown PN, Elzinga S, Johnson HE, et al. Cannabis inflorescence for medical purposes: USP considerations for quality attributes. *J Nat Prod*. 2020;83(4):1334-51. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b01200.
- ธนวัฒน์ ทองจีน, สรเพชร มาสุต, พิธีธรรม เทียมเทียบรัตน์, สายัณห์ เรืองเขตร, ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง, พิเชฐ บัญญัติ, และคณะ. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริ-

- มาณแคนนาบินอยด์ในใบกัญชาด้วยวิธี ultra high performance liquid chromatography. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ [อินเทอร์เน็ต]. 2564 [สืบค้นเมื่อ 20 ก.พ. 2568];63(3):505-23. สืบค้นจาก: <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/dm-sc/article/view/252742>
6. Wilson WB, Abdul-Rahman M. Determination of 11 cannabinoids in hemp plant and oils by liquid chromatography and photodiode array detection. *Chromatographia*. 2022;85(1):115-25. doi: 10.1007/s10337-021-04114-y.
 7. Mandrioli M, Tura M, Scotti S, Gallina Toschi T. Fast detection of 10 cannabinoids by RP-HPLC-UV method in *Cannabis sativa* L. *Molecules*. 2019;24(11):2113. doi: 10.3390/molecules24112113.
 8. Schettino L, Prieto M, Benedé JL, Chisvert A, Salvador A. A rapid and sensitive method for the determination of cannabidiol in cosmetic products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Cosmetics*. 2021;8(2):30. doi: 10.3390/cosmetics8020030.
 9. Galant N, Czarny J, Powierska-Czarny J, Piotrowska-Cyplik A. Development and validation of the LC–MS/MS method for determination of 130 natural and synthetic cannabinoids in cannabis oil. *Molecules*. 2022;27(23):8601. doi: 10.3390/molecules27238601.
 10. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. สำนักยาและวัตถุเสพติด. Thai Herbal Pharmacopoeia 2021 Supplement 2024 [อินเทอร์เน็ต]. นนทบุรี: สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2567 [สืบค้นเมื่อ 10 ก.พ. 2568]. สืบค้นจาก: <https://website.bdn.go.th/th/e-book/detail/nGM4ZtWewEb3QWewEb3Q>
 11. United States Pharmacopeia. General Chapter, <621> Chromatography [Internet]. Rockville (MD): The United States Pharmacopeial Convention; 2025 [cited 2025 Feb 13]. Available from: https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M99380_09_01.html
 12. The International Council for Harmonization of Technical Requirements of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Validation of analytical procedures - Scientific guideline Q2(R1) [Internet]. Amsterdam: European Medicines Agency; 1995 [cited 2025 Jan 21]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5-first-version_en.pdf
 13. นพวัฒน์ เฟื่องคำศรี. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเภสัชกรรม [อินเทอร์เน็ต]. นนทบุรี: ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์ สภาเภสัชกรรม; 2560 [สืบค้นเมื่อ 10 ม.ค. 2567]. สืบค้นจาก: https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=338
 14. AOAC. Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements [Internet]. Rockville (MD): AOAC International; 2016 [cited 2025 Mar 11]. Available from: <https://www.aoac.org/resources/guidelines-for-standard-method-performance-requirements/>
 15. Kühn-Hebecker A. New quality standards for medical cannabis and CBD [Internet]. Heidelberg: Concept Heidelberg GmbH; 2025 [cited 2025 Jun 1]. Available from: <https://www.gmp-journal.com/current-articles/details/new-quality-standards-for-medical-cannabis-and-cbd.html>