คลอแรมเฟนิคอลสำหรับละลายเป็นยาหยอดตาโดยมี 2-ไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเด็กซ์ทรินเป็นส่วนประกอบ

นางสาววริษฎา ศิลาอ่อน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ.2538

ISBN 974-631-249-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHLORAMPHENICOL FOR OPHTHALMIC SOLUTION CONTAINING 2-HYDROXYPROPYL-β-CYCLODEXTRIN

MISS VARISADA SILAON

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy
Department of Manufacturing Pharmacy
Graduate School
Chulalongkorn University
1995

ISBN 974-631-249-9

Thesis Title	Chloramphenicol for ophthalmic solution containing 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin
By	Miss Varisada Silaon
Department	Manufacturing Pharmacy
Thesis Advisor	Assistant Professor Poj Kulvanich, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

.....Dean of Graduate School
(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

Thesis Committee

.....Chairman
(Associated Professor Parunee Thanomkiat, M. Pharm. St.)

.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Poj Kulvanich, Ph.D.)

.....Thesis Co-Advisor
(Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.)

.....Member
(Panida Vayumhasuwan, Ph.D.)

.....Member
(Parkpoom Tengamnuay, Ph.D.)

วริษฎา ศิลาอ่อน : คลอแรมเฟนิคอลสำหรับละลายเป็นยาหยอดตา โดยมี 2-ไฮดรอกซีโพรพิล-เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นส่วนประกอบ (CHLORAM PHENICOL FOR OPHTHALMIC SOLUTION CONTAINING 2-HYDROXYPROPYL-β-CYCLODEXTRIN) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. พจน์ ทุมวงศ์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. ชวนพิศ ภัตรพานิช, 115 หน้า. ISBN 974-631-249-9

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อใช้ 2-ไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินในการช่วยเพิ่มการละลายคลอแรมเฟนิคอล แล้วนำมาเตรียมเป็นผงแห้งคลอแรมเฟนิคอล สำหรับละลายเป็นยาหยอดตาด้วยกระบวนการทำให้แห้ง โดยใช้ความเย็นเยือกแข็ง (Lyophilization) จากแผนภูมิการละลายน้ำ (Phase solubility diagram) ของคลอแรมเฟนิคอลเมื่อมีส่วนผสมของ 2-ไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน และยืนยันการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของคลอแรมเฟนิคอลที่ใช้กระบวนการทำให้แห้งโดยใช้ความเย็นเยือกแข็ง โดยวิธี IR spectrophotometry, Differential thermal analysis (DTA) และ X-ray diffraction พบว่าคลอแรมเฟนิคอลเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ 2-ไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ในอัตราส่วน 1:2 และมีค่าความคงตัวของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเท่ากับ 118 M^{-1}

เมื่อนำผงแห้งคลอแรมเฟนิคอล สำหรับละลายเป็นยาหยอดตา ที่เตรียมด้วยกระบวนการทำให้แห้งโดยใช้ความเย็นเยือกแข็ง มาศึกษาความคงตัวด้วยการเก็บที่อุณหภูมิ 45° เซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75% เป็นเวลานาน 4 เดือน ปรากฏว่าผลิตภัณฑ์ยังคงมีคุณสมบัติตามข้อกำหนดของตำรับ ทั้งลักษณะกายภาพ เช่น ความหนืด, ความเป็นกรด-ด่าง และค่าโทนิซิตี้ (Tonicity) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อละลายผงแห้งคลอแรมเฟนิคอลนี้ด้วยกระสายยา แล้วนำไปศึกษาความคงตัวโดยวิธีเร่ง โดยให้ยาหยอดตาดังกล่าวเก็บที่อุณหภูมิ 37°, 45°, 55° และ 65° เซลเซียส พบว่าการสลายตัวของคลอแรมเฟนิคอลในสูตรตำรับเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง มีค่าพลังงานก่อกัมมันต์ (Heat of activation) อยู่ระหว่าง 18-25 กิโลแคลอรี่/โมล เมื่อคำนวณหาอายุการใช้ยาที่อุณหภูมิ 25° เซลเซียส พบว่าอายุการใช้ยาตำรับที่ใช้ 2-ไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินเป็นส่วนประกอบจะยาวนานกว่าสูตรตำรับยาหยอดตาคลอแรมเฟนิคอล BPC 1973 การศึกษาทางจุลชีววิทยาพบว่าคุณสมบัติในการต้านเชื้อของสารประกอบเชิงซ้อนไม่เปลี่ยนแปลงไปจากคลอแรมเฟนิคอลเบส นอกจากนี้ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองเมื่อทดสอบในตากระต่าย

ภาควิชา เภสัชอุตสาหกรรม ลายมือชื่อนิสิต วริษฎา ศิลาอ่อน

สาขาวิชา - ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

##C575212 MAJOR MANUFACTURING PHARMACY
KEY WORD: CHLORAMPHENICOL/ HYDROXYPROPYL-β-CYCLODEXTRIN/ LYOPHILIZATION/ EYE DROPS/ STABILITY
VARISADA SILAON : CHLORAMPHENICOL FOR OPHTHALMIC SOLUTION CONTAINING 2-HYDROXYPROPYL-β-CYCLODEXTRIN. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. POJ KULVANICH, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASST. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, Ph.D. 115 pp. ISBN 974-631-249-9

This present study is concerned with the use 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin (2-HP-β-CD) to enhance the aqueous solubility of chloramphenicol and its application in preparing reconstituted chloramphenicol powder for eye drops using lyophilization technique. The investigation of phase solubility diagram showed an increase of aqueous solubility of chloramphenicol in the presence of 2-HP-β-CD. The examination of freeze dried powder of chloramphenicol : 2-HP-β-CD by IR spectrophotometry, Differential thermal analysis (DTA) and X-ray diffraction revealed the formation of the complex. The stoichiometry of the complex was considered to have the ratio of 1:2 with the stability constant (k_c) of 118 M^{-1}

The reconstituted chloramphenicol powder for eye drops formulation using 2-HP-β-CD as an additive could retain its potency as required after storage for 4 months at 45°C and 75% relative humidity. In addition, the physical properties such as viscosity, pH and tonicity were significantly unchanged. The accelerated stability test of reconstituted chloramphenicol powder for eye drops preparations after dissolving with vehicles at 37°, 45°, 55° and 65°C were performed. It was found that the degradation of the drug in this formulation was first order kinetics. The heat of activation was found to be in the range of 18-25 kcl/mol. The calculated shelf-lives at 25°C of preparations containing 2-HP-β-CD exhibited longer shelf-lives than that of chloramphenicol eye drops BPC 1973. The antimicrobial activity of chloramphenicol : 2-HP-β-CD complex was not altered when compared with chloramphenicol base. Moreover, chloramphenicol : 2-HP-β-CD eye drops did not produce eye irritation in rabbits.

ภาควิชา เภสัชกรรมทั่วไป ลายมือชื่อนิสิต วริษฎา ศิลาอ่อน

สาขาวิชา - ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACNOWLEDGEMENTS

It is a great pleasure to express my sincere gratitude and appreciation to my thesis advisor, Assistant Professor Dr.Poj Kulvanich for his invaluable suggestion, guidance, continued interest and constructive criticism throughout the course of my study. I am also indebted for his tremendous assistance in the preparation of this manuscript.

My special thanks go to my co-advisor, Assistant Professor Dr.Chamnan Patarapanich, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Science. I am very grateful for his invaluable suggestion, guidance and data interpretation in all instrumental analysis.

I would like to express my thank to Siam Co, Ltd., and Silom Co, Ltd., for their generous supply of drug for this study.

I also would like to thank the staff of Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science for their coorperation, and also extended to The Scientific and Technological Research Equipment Center for performing FTIR spectra, X-ray diffraction pattern and differential thermogram.

A special acknowledgement is extended to all staffs in the Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University for providing research facilities and the helpful during my work.

Finally, I would like to express my grateful appreciation to my parents for their continuous support, love, care and cheerfulness throughout my graduate study.

CONTENTS

PAGE

THAI ABSTRACT....iv
ENGLISH ABSTRACT....v
ACKNOWLEDGEMENTS....vi
CONTENT....vii
LIST OF TABLES....viii
LIST OF FIGURES....x
LIST OF ABBREVIATIONS....xii
CHAPTER
I GENERAL BACKGROUND....1
II EXPERIMENTAL....28
III RESULTS....40
IV DISCUSSION....82
V CONCLUSIONS....93
REFERENCES....95
APPENDICES....102
VITAE....115

LIST OF TABLES

TABLE **PAGE**

1. Degradation products of chloramphenicol....8
2. Comparison of chloramphenicol eye drops in Pharmacopeia....13
3. Solubility of cyclodextrins and cyclodextrin derivatives....21
4. 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin dosage given to humans and routes of administration used....23
5. Physicochemical properties of β-cyclodextrin and its 2-HP-β-CD derivitives....24
6. Composition of reconstituted powder for eye drops of chloramphenicol : 2-HP-β-CD 32
7. Phase solubility data of chloramphenicol : 2-HP-β-CD in water at room temperature....42
8. Viscosity values of various preparations when stored at room temperature (25°C) for 4 months....49
9. pH values of various preparations when stored at room temperature (25°C) for 4 months....50
10. Tonicity values of various preparations when stored at room temperature (25°C) for 4 months....51
11. Five temperatures degradation of reconstituted powder (Formula I) for eye drops....55
12. Five temperatures degradation of reconstituted powder (Formula II) for eye drops....56
13. Five temperatures degradation of chloramphenicol complex solution....57
14. Five temperatures degradation of chloramphenicol eye drops BPC 1973....58
15. The statistic values of reconstituted powder (Formula I) for eye drops which were calculated from data presented in Table 11....59
16. The statistic values of reconstituted powder (Formula II) for eye drops which were calculated from data presented in Table 12....60
17. The statistic values of chloramphenicol complex solution which were calculated from data presented in Table 13....61
18. The statistic values of chloramphenicol eye drops BPC1973 which were calculated from data presented in Table 14....62

TABLE (CONT.) **PAGE**

19. Compared the rate constants (k) of 4 preparations at 5 temperatures and the k values were orderly ranged from minimum to maximum....63
20. Arrhenius relationship of reconstituted powder (Formula I) for eye drops....68
21. Arrhenius relationship of reconstituted powder (Formula II) for eye drops....69
22. Arrhenius relationship of chloramphenicol complex solution....70
23. Arrhenius relationship of chloramphenicol eye drops BPC 1973....71
24. Comparison of Heat of activation (Ea)....74
25. Comparison of the degradation rate constants extrapolated to 25°C and shelf-life calculated according to the 90-100 % LA and the standard of BP 1993....75
26. Comparison of the apparent degradation rate constants at 25°C and shelf-life calculated according to the 90-100 % LA and the standard of BP 1993....75
27. Comparison of the degradation rate constants extrapolated to 8°C and shelf-life calculated according to the 90-100 % LA and the standard of BP 1993....76
28. Comparison of the extrapolated degradation rate constants and apparent rate constants at room temperature (25°C)....77
29. Comparison of the extrapolated shelf-life and the apparent shelf-life according to the 90-100 % LA....77
30. Comparison of the extrapolated shelf-life and the apparent shelf-life according to the standard of BP1993....77
31. The stability of reconstituted powder for eye drops....78
32. The inhibition zone diameter (mm) of reference standard, chloramphenicol and chloramphenicol : 2-HP-β-CD complex..80
33. Eye irritation test of chloramphenicol and chloramphenicol : 2-HP-β-CD eye drops....81

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

1. Molecular structure of chloramphenicol.....5
2. The first order character of chloramphenicol degradation in different buffers.....9
3. The effect of H^+ concentration upon the ability of citrate buffer system to catalyze the degradation of chloramphenicol..10
4. pH rate profile of chloramphenicol.....11
5. Arrhenius plot of hydrolysis of chloramphenicol at pH 6.....12
6. Schematic representation of the A-type phase diagrams.....19
7. Schematic representation of the B-type phase diagrams.....19
8. Structure formula and characteristics of 2-HP-β-CD.....21
9. UV scanning for maximum absorbance wavelength of chloramphenicol and chloramphenicol : 2-HP-β-CD.....41
10. Standard curve of chloramphenicol (UV spectrophotometry)...42
11. Phase solubility diagram of chloramphenicol : 2-HP-β-CD in water at room temperature.....43
12. Comparison of FTIR Spectrum of chloramphenicol and chloramphenicol : 2-HP-β-CD complex.....45
13. Differential Thermal Analysis (DTA).....46
14. Comparison of X-ray Diffraction Pattern of chloramphenicol and chloramphenicol : 2-HP-β-CD complex.....47
15. Chromatogram of chloramphenicol : 2-HP-β-CD complex.....52
16. Chromatogram of chloramphenicol.....52
17. Standard curve of chloramphenicol : 2-HP-β-CD (HPLC).....53
18. Standard curve of chloramphenicol (HPLC).....53
19. First order degradation profiles of reconstituted powder (Formula I) for eye drops at various temperatures.....64
20. First order degradation profiles of reconstituted powder (Formula II) for eye drops at various temperatures.....65
21. First order degradation profiles of chloramphenicol complex solution at various temperatures.....66
22. First order degradation profiles of chloramphenicol eye drop BPC 1973 at various temperatures.....67
23. Arrhenius plot of reconstituted powder (Formula I) for eye drops.....72
24. Arrhenius plot of reconstituted powder (Formula II) for eye drops.....72

FIGURE (CONT.) **PAGE**

25. Arrhenius plot of chloramphenicol complex solution.....73
26. Arrhenius plot of chloramphenicol eye drop BPC 1973.....73
27. Comparison of stability of reconstituted powder (Formula I and II) for eye drops at 45°C and 75 %RH for 4 months.....79
28. Comparison of stability of reconstituted powder (Formula I and II) for eye drops at room temperature 4 months.....79
29. Microbiological activity test of chloramphenicol and chloramphenicol : 2-HP-β-CD complex.....81
30. Schematic representation of dissolution-dissociation-absorption process of a drug-cyclodextrin (D-CyD) complex...83
31. FTIR Spectrum of chloramphenicol.....107
32. FTIR Spectrum of 2-HP-β-CD.....108
33. FTIR Spectrum of physical mixture of chloramphenicol and HP-β-CD (1 : 2).....109
34. FTIR Spectrum of chloramphenicol : 2-HP-β-CD solid complex.....110
35. X-ray diffraction pattern of chloramphenicol.....111
36. X-ray diffraction pattern of 2-HP-β-CD.....112
37. X-ray diffraction pattern of physical mixture of chloramphenicol and 2-HP-β-CD (1 : 2).....113
38. X-ray diffraction pattern of chloramphenicol : 2-HP-β-CD solid complex.....114

ABBREVIATIONS

AUC	Area under the curve
BP	The British Pharmacopoaia
BPC	The British Pharmaceutical Codex
β-cyclodextrin	Beta cyclodextrin
α-cyclodextrin	Alpha cyclodextrin
°C	degree Celcius
C.F.R.	Code of Federal Regulation
cm	Centimetre
Cu	Copper
DTA	Differential thermal analysis
g	gram
HPLC	High performance liquid chromtography
HPMC	Hydroxypropyl methylcellulose
2-HP-β-CD	2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin
FTIR	Fourier Transform Infra-red
k	The degradation rate constant
k_c	The stability constant
K	degree Kelvin
kcal	Kilocalorie
M	Molarity
mg	milligram
ml	millilitre
mm	millimetre
mosmole	milliosmole
mT	millitore
nm	nanometre
PVP	Polyvinyl pyrrolidone
USP	The United State Pharmacopeia
UV	Ultraviolet
µg	microgram
µm	micrometre