

การปรับปรุงความคงตัวทางเคมีของยาคลอแรมเฟนิคอลเบส
โดยการทำให้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน



นางสาวอนงค์ ปัทมลิริวัฒน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเภสัชเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2533

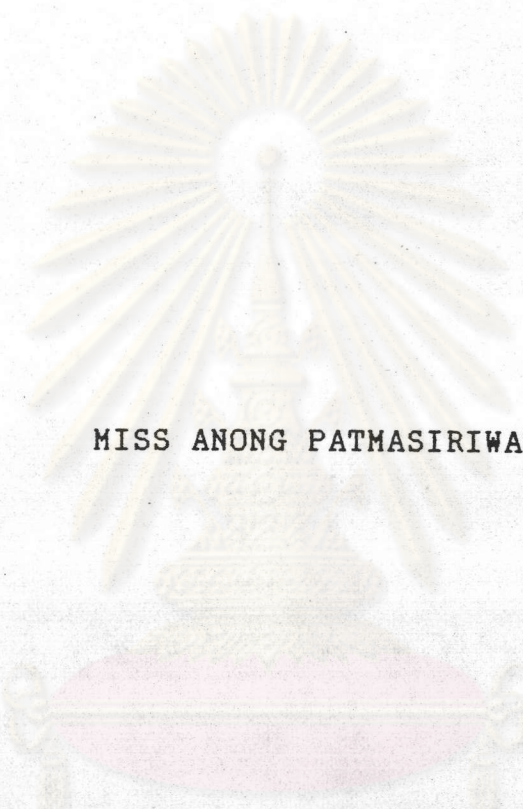
ISBN 974-577-924-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016617

i 10308763

IMPROVEMENT OF CHEMICAL STABILITY OF
CHLORAMPHENICOL BASE BY β -CYCLODEXTRIN COMPLEXATION



MISS ANONG PATMASIRIWAT

คุณวิทย์ทรัพย์ากร
ศูนย์วิจัยทรัพยากร
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Sciences in Pharmacy

Graduate School
Chulalongkorn University

1990

ISBN 974-577-924-5

Copyright of Graduate School, Chulalongkorn University

Thesis Title Improvement of Chemical Stability of
Chloramphenicol base by β -Cyclodextrin
Complexation
By Miss Anong Patmasiriwat
Department Pharmaceutical Chemistry
Thesis Advisor Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.
Instructor Mitr Pathipvanich, Ph.D.



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

Thavorn Vajrabhaya Dean of Graduate School
(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

Suttatip Chantaraskul Chairman
(Associate Professor Suttatip Chantaraskul, M.Sc.in Pharm.)
Chamnan Patarapanich Member
(Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.)
Mitr Pathipvanich Member
(Instructor Mitr Pathipvanich, Ph.D.)
Suwanna Laungchonlatan Member
(Associate Professor Suwanna Laungchonlatan, M.Sc.in Pharm.)
Garnpimol C. Ritthidej Member
(Assistant Professor Garnpimol C. Ritthidej, Ph.D.)

Copyright of Graduate School, Chulalongkorn University



อนงค์ ปัทมสิริวัฒน์ : การปรับปรุงความคงตัวของยาคลอแรมเฟนิคอลเบสโดย
การทำเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเบต้าไซโคลเด็กซ์ทริน (IMPROVEMENT OF CHEMICAL
STABILITY OF CHLORAMPHENICOL BASE BY β -CYCLODEXTRIN COMPLEXATION)
อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. ชำนาญ ภัทรพานิช, อ.ที่ปรึกษาร่วม : อ.ดร. มิตร ปทีปดิษ,
100 หน้า. ISBN 974-577-924-5

เนื่องจากปัญหาเรื่องความคงตัวของยาคลอแรมเฟนิคอลในตำรับยา
หยอดตา จึงต้องแก้ไขปัญหาดังกล่าวโดยการนำมาทำเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแบบอินคลูชันกับ เบต้า-
ไซโคลเด็กซ์ทริน การศึกษาแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน จาก Phase Solubility Diagram ในน้ำที่อุณหภูมิ
ห้อง (33°C) ผลปรากฏว่าคลอแรมเฟนิคอลเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ เบต้าไซโคลเด็กซ์ทรินใน
อัตราส่วน 1:1 และมีค่าความคงตัวของสารประกอบเชิงซ้อนได้เท่ากับ $9.63 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$
การละลายน้ำของคลอแรมเฟนิคอลเพิ่มขึ้นประมาณ 2.5 เท่า สารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมได้ถูกนำไป
ตรวจสอบเพื่อยืนยันโดยวิธี IR spectroscopy วิธี differential thermal analysis (DTA),
และวิธี X-ray diffraction ให้ผลยืนยันว่าคลอแรมเฟนิคอลสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแบบ
อินคลูชันกับเบต้าไซโคลเด็กซ์ทรินได้จริง

การคาดการณ์อายุการใช้ยา (shelf-life) ตามวิธีของ B.P.C. 1973 ไปที่อุณหภูมิห้อง
ผลปรากฏว่าอายุการใช้ยาในกรณีของสารประกอบเชิงซ้อนจะยาวนานกว่าในกรณีของคลอแรมเฟนิคอล
ประมาณ 4 เท่า โดยสารประกอบเชิงซ้อนและคลอแรมเฟนิคอลมีพลังงานก่อกัมมันตภาพรังสี (E_a) เท่ากับ
24.70 kcal/mol และ 20.85 kcal/mol ตามลำดับ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางจุลชีววิทยาพบว่า สารประกอบ
เชิงซ้อนเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ทางจุลชีววิทยา (Microbiological Activity Test) โดยวิธี
มาตรฐานของ C.F.R. พบว่ายังคงมีฤทธิ์ต้านจุลชีพเทียบเท่าตัวยาคลอแรมเฟนิคอลดั้งเดิม

ศูนย์วิทยพัชการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เกสัชเคมี
สาขาวิชา เกสัชเคมี
ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิติ *Om sheh*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *[Signature]*
[Signature]



ANONG PATMASIRIWAT : IMPROVEMENT OF CHEMICAL STABILITY OF
CHLORAMPHENICOL BASE BY β -CYCLODEXTRIN COMPLEXATION : THESIS ADVISOR
: ASSIS. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, Ph.D., CO-ADVISOR : MITR
PATHIPVANICH, Ph.D., 100 PP. ISBN : 974-577-924-5

In order to improve water solubility and chemical stability of chloramphenicol in eye-drop preparation. The complex formation between chloramphenicol and β -cyclodextrin was studied. The study was divided into three steps. The phase solubility diagram indicated that the stoichiometric ratio of chloramphenicol : β -cyclodextrin was 1:1 with the formation constant (K_c) of $9.63 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$. The stoichiometric ratio of the complex was confirmed by IR spectroscopy, differential thermal analysis (DTA). Water solubility of chloramphenicol increases by 2.5 folds.

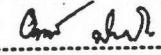
The shelf-life were calculated using B.P.C. 1973 method. It was found that chloramphenicol : β -cyclodextrin showed significantly longer shelf-life than that of chloramphenicol (about 4 times). The activation energy (E_a) for the degradation of the complex and chloramphenicol calculated from Arrhenius plots were 24.70 kcal/mol and 20.86 kcal/mol respectively. Finally, the microbiological activity test was studied by using the C.F.R. method. The result showed that chloramphenicol : β -cyclodextrin complex formation did not change the antimicrobial activity as compared to chloramphenicol.

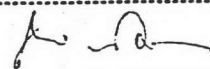
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ภาควิชา เภสัชเคมี

สาขาวิชา เภสัชเคมี

ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิติ 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

..... 



ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to express her sincere gratitude to her major advisor Assistant Professor Channan Patarapanich and Dr. Mitr Pathipvanich, for their supervision and guidance.

To her supervisory committee, she would also like to thank for their evaluable comments

A special appreciation is given to Department of Geology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, for the permission of using X-ray Diffractometer.

Her appreciation is also extended to all staffs of Microbiology Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for their helpful cooperation, and also extended to the Scientific and Technological Research Equipment Center, Chulalongkorn University, Bangkok Thailand for performing IR spectra and differential thermograms.

She also would like to thank all staffs of Pharmaceutical Chemistry Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for their helpful cooperation. Finally she would like to express appreciation to her brother, Mr. Manoch Patmasiriwat, and Mr. Sutthipong Chiangtong for their help and encouragement.



ABBREVIATIONS

| | | |
|-------|---|----------------------------------------|
| CD | = | Cyclodextrin |
| CDs | = | Cyclodextrins |
| HPLC | = | High Performance Liquid Chromatography |
| K_C | = | Formation Constant |
| IR | = | Infrared |
| DTA | = | Differential Thermal Analysis |
| e.g. | = | for example |

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



CONTENTS

| | Page |
|-------------------------------------------------------------------------|------|
| THAI ABSTRACT | iv |
| ENGLISH ABSTRACT | v |
| ACKNOWLEDGEMENT | vi |
| ABBREVIATIONS | vii |
| LIST OF TABLES | ix |
| LIST OF FIGURES | xii |
| CHAPTER I INTRODUCTION | 1 |
| 1. Literature Reviews of Chloramphenicol | 1 |
| 2. Classification of Complexes | 4 |
| 3. Literature Reviews of Cyclodextrins and Inclusion Complexes | 6 |
| 3.1 Preparation, Structure and Properties of Cyclodextrins | 7 |
| 3.2 Toxicity of Cyclodextrins | 9 |
| 3.3 Cyclodextrin Inclusion Complexes | 9 |
| 3.4 Synthesis of Cyclodextrin Inclusion Complexes | 11 |
| 3.5 Cyclodextrin Complexation in Solution | 12 |
| 3.6 Phase Solubility Analysis | 14 |
| 3.7 Method Used for Investigation of Inclusion Complexes | 17 |

| | | |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4. | The Application of Cyclodextrin Inclusion Complexes Concerning the Drug Stability ... | 18 |
| a. | Influence on Thermal Stability | 19 |
| b. | Resistance to Oxidation | 20 |
| c. | Resistance to Hydrolysis and Degradation in Solution | 22 |
| CHAPTER II | THE PURPOSE OF INVESTIGATION | 27 |
| CHAPTER III | EXPERIMENT | 28 |
| 1. | Equipment | 28 |
| 2. | Materials | 29 |
| 3. | Methods | 30 |
| 3.1 | Phase Solubility Analysis | 30 |
| 3.2 | Preparation of β -CD Chloramphenicol Solid Complexes | 31 |
| 3.3 | Investigation of Chloramphenicol : β -CD Solid Complexes | 32 |
| 3.4 | Stability Studies | 33 |
| 4. | The Quantitative Agar Diffusion Assay Used for Testing Activity of Chloramphenicol vs Complexes | 38 |
| CHAPTER IV | RESULT AND DISCUSSION | 42 |
| CHAPTER V | CONCLUSION | 51 |
| REFERENCES | | 52 |
| APPENDICES | | 60 |
| VITA | | 91 |

LIST OF TABLES

| Table | | Page |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 | Phase Solubility Data for Chloramphenicol β - CD in Water at Room Temperature. | 63 |
| 2 | The Values of $(\ln \frac{A}{A_0})$ of Chloramphenicol, Comparing the Freezed Method (F) With the Non-Freezed Method (NF) | 64 |
| 3 | The Values of $(\ln \frac{A}{A_0})$ of Complex, Comparing the Freezed Method (F) With the Non-Freezed Method (NF) | 65 |
| 4 | Data of chloramphenicol Content Remained at 70°, 60°, 50°, 40°C and Room Temperature (33°C) | 66 |
| 5 | The Statistic Values (r^2 , k, F and sk) of Chloramphenicol Which were calculated from Data Present in Table 4 | 67 |
| 6 | Data of Chloramphenicol : β -CD Complex Content Remained at 70°, 60°, 50°, 40°C, and Room Temperature (33° C) | 68 |
| 7 | The Statistic Values (r^2 , k, F and sk) of Chloramphenicol : β -CD Complex which calculated from data Present in Table 6 | 69 |
| 8 | Arrhenius Relationship of Chloramphenicol base | 70 |

| Table | | Page |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 9 | Arrhenius Relationship of Chloramphenicol : β -CD | 71 |
| 10 | The Extrapolated Shelf-life Values and the Apparent Shelf-life Values of Chloramphenicol and Complex at Room Temperature (33°C) | 72 |
| 11 | Antimicrobial Test of Chloramphenicol base vs Chloramphenicol : β -CD Complex | 73 |



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

| Figure | | Page |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 | Molecular Structure of Chloramphenicol | 1 |
| 2 | Molecular Structure of β - Cyclodextrin | 8 |
| 3 | Phase Solubility Diagram as the Typical B_S -Type | 16 |
| 4 | Phase Solubility Diagram of Chloramphenicol base : β - Cyclodextrin in Water at Room Temperature | 74 |
| 5 | IR Spectrum of Chloramphenicol base | 75 |
| 6 | IR Spectrum of β -Cyclodextrin | 76 |
| 7 | IR Spectrum of Physical Mixture (1:1 of Chloramphenicol base : β - Cyclodextrin) | 77 |
| 8 | IR Spectrum of Chloramphenicol : β -CD Complex | 78 |
| 9 | Differential Thermal Analysis (DTA) | 79 |
| 10 | X-ray Diffraction Patterns of Physical Mixture 1:1 (C) and Complex (D) | 80 |
| 11 | X-ray Diffraction Patterns of Chloramphenicol base (A), β -Cyclodextrin (B), and Physical Mixture 1:1 (C) | 81 |
| 12 | Chromatogram by HPLC of Chloramphenicol | 82 |
| 13 | Chromatogram by HPLC of Chloramphenicol ... | 83 |
| 14 | Standard Curve of Chloramphenicol base ... | 83 |
| 15 | Standard Curve of Chloramphenicol : β -CD Complex | 85 |

| Figure | | Page |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 16 | Degradation Rate Constant of Chloramphenicol base at Various Temperature (40° , 50° , 60° , 70° , and 33°C) | 86 |
| 17 | Degradation Rate Constant of Chloramphenicol : β -CD Complex at various Temperature (40° , 50° , 60° , 70° , and 33°C) | 87 |
| 18 | Arrhenius plot of Chloramphenicol base | 88 |
| 19 | Arrhenius Plot of Chloramphenicol : β -CD Complex | 89 |
| 20 | Microbial Activity Test Between Chloramphenicol and Chloramphenicol : β -CD Complex | 90 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย