

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์กระบวนการในการเตรียมผงแห้ง

ของยาอะซิโตรมัยซินแบบกบรส

นายธีรวุฒิ ชมเชย



ห้องสมุดคณะเภสัชศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชอุตสาหกรรม ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



5476208633

APPLICATION OF PROCESS ANALYTICAL TECHNOLOGY IN THE PREPARATION OF  
TASTE-MASKED AZITHROMYCIN DRY POWDER

Mr. Teerawut Chomchoey



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Industrial Pharmacy  
Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy  
Faculty of Pharmaceutical Sciences  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2013  
Copyright of Chulalongkorn University



ธีรจุมิ ชมเชย : การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์กระบวนการในการเตรียมผงแห้งของยาอะซิโทรมัยซินแบบกลบรส. (APPLICATION OF PROCESS ANALYTICAL TECHNOLOGY IN THE PREPARATION OF TASTE-MASKED AZITHROMYCIN DRY POWDER) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ภาณุ. ดร.นฤพร สุทัศน์วิบูลย์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. ภาณุ. ดร.จิตติมา ชัชวาลย์สายสินธ์, 99 หน้า.

Near-Infrared spectroscopy (NIRs) เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่นำมาใช้อย่างกว้างขวางในเทคโนโลยีการวิเคราะห์กระบวนการ ทั้งนี้จัดเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่รวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง ตัวอย่างที่นำมาทำการวิเคราะห์นั้นไม่จำเป็นต้องผ่านการเตรียมตัวอย่างซึ่งเป็นการลดขั้นตอนการวิเคราะห์แบบเดิม ตัวอย่างสำคัญอะซิโทรมัยซิน, สารกลบรส Eudragit® E PO และสารผสมได้ถูกนำมาวิเคราะห์ตามคุณสมบัติเชิงเคมีของแข็ง ได้แก่ การตรวจสอบรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์, การตรวจวิเคราะห์ทางสเปกตรัม, การตรวจวัดทางอุณหภูมิ และการตรวจวิเคราะห์เลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ การประยุกต์ใช้ NIRs ในเทคโนโลยีการวิเคราะห์กระบวนการเพื่อหาจุดยุติของสถานะความเป็นเนื้อเดียวกันในการกลบรสของผงยาอะซิโทรมัยซินภายใต้เครื่องผสม Erweka® AR400 ในรูปแบบการวิเคราะห์พหุตัวแปรเชิงคุณภาพ และเครื่องผสม PMS® MG15T ในรูปแบบการวิเคราะห์พหุตัวแปรเชิงปริมาณ โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษาเป็นการพัฒนารูปแบบการวิเคราะห์พหุตัวแปรทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณโดยใช้หลักการทางเคโมเมตริก นอกจากนี้เพื่อศึกษาถึงการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์กระบวนการด้วย NIRs สำหรับตรวจติดตามกระบวนการกลบรสของผงยาดังกล่าวเพื่อประเมินจุดยุติของกระบวนการ ผลการศึกษาพบว่าสถานะความเป็นเนื้อเดียวกันในการกลบรสด้วยการวิเคราะห์ทางเคโมเมตริกซ์จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบสำคัญ (PCA) ที่ระยะเวลา 20-30 นาทีและสัดส่วนเชิงของแข็งของสารกลบรสและตัวอย่างสำคัญในอัตราส่วน 0.4:1 เป็นจุดยุติที่มีความเหมาะสมของสถานะความเป็นเนื้อเดียวกันของสารผสมสุดท้ายที่ได้ นอกจากนี้ในการศึกษาด้วยการวิเคราะห์เชิงปริมาณจากตัวแบบเส้นทางกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (PLS) ได้รูปแบบความสัมพันธ์ของตัวแปร  $x$  และ  $y$  เป็นเชิงเส้นตรงทั้งในการตรวจวิเคราะห์เชิงการสอบเทียบและการตรวจสอบความถูกต้อง สามารถใช้อธิบายจุดยุติเชิงปริมาณของการกลบรสของผงยาอะซิโทรมัยซินได้สอดคล้องกันกับการวิเคราะห์เชิงปริมาณแบบปรุภูมิจาก HPLC ซึ่งเป็นการพิสูจน์ถึงความสามารถของ NIRs และการตรวจติดตามแบบเวลาจริงได้อย่างเหมาะสมในการนำมาตรวจติดตามและวิเคราะห์กระบวนการกลบรสของผงยาอะซิโทรมัยซินเพื่อต่อยอดไปยังการพัฒนาเป็นผงยาสำหรับเตรียมเป็นยาน้ำแขวนตะกอนต่อไป

ภาควิชา วิทยาการเภสัชกรรมและเภสัช  
อุตสาหกรรม  
สาขาวิชา เภสัชอุตสาหกรรม  
ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนิสิต ศุภณัฐ ใจดี  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ภาณุ  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม จิตติมา

# # 5476208633 : MAJOR INDUSTRIAL PHARMACY

KEYWORDS: NEAR INFRARED SPECTROSCOPY / PROCESS ANALYTICAL TECHNOLOGY / TASTE MASKED AZITHROMYCIN / PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS / PARTIAL LEAST SQUARE REGRESSION / CHEMOMETRICS

TEERAWUT CHOMCHOEY: APPLICATION OF PROCESS ANALYTICAL TECHNOLOGY IN THE PREPARATION OF TASTE-MASKED AZITHROMYCIN DRY POWDER. ADVISOR: NARUEPORN SUTANTHAVIBUL, Ph.D., CO-ADVISOR: JITTIMA CHATCHAWALSAIN, Ph.D., 99 pp.

One of the most widespread Process Analytical Technology (PAT) tool is Near-Infrared (NIR) spectroscopy, which is a fast and non-invasive analytical technique with no sample preparation necessary. Azithromycin, Eudragit® E PO and their physical mixtures were initially characterized by microscopic, spectroscopic, thermal and powder X-ray analyses. PAT using NIRs was developed to qualitatively monitor the homogeneity end-point in taste masking of azithromycin powder during blending in Erweka® AR400 Universal Lab mixer. A quantitative model in PMS® MG15T mixer was also constructed. For these purposes, fiber optic probe NIRs diode array spectrometer with fast data acquisition was selected. The results show well-defined clusters differentiating the homogeneous and non-homogeneous states. The homogeneity state of the taste-masked blending process was detected by Principal Component Analysis (PCA). The results were evaluated by chemometric analysis which results in the optimum solid ratios of Eudragit® E PO to azithromycin and blending time of 0.4:1 and 20-30 minutes, respectively. Partial Least Square (PLS) regression models based on the NIRs data and HPLC data were calibrated and validated. From this study, NIR spectroscopy is proven to be a suitable PAT tool for the real-time end-point monitoring for blend homogeneity and taste masking process. Additionally, this study provides useful information to improve and verify the quality of pharmaceutical dosage forms such as dry powder for suspensions.

Department:      Pharmaceutics and  
                          Industrial Pharmacy

Field of Study:   Industrial Pharmacy

Academic Year:  2013

Student's Signature *Teerawut Chomchoey*

Advisor's Signature *Narueporn Sutanthavibul*

Co-Advisor's Signature *Jittima Chatchawalsain*



## ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis was successfully achieved through the cooperation of many individuals. I am heartily thankful to my advisor, Dr. Narueporn Sutanthavibul for her valuable advices, creative guidance, encouragement, valuable comments and support given throughout my time in graduate school. These were key elements for me to achieve this project.

I am also indebted to my co-advisor, Dr. Jittima Chatchawalsaisin for her kind assistance, helpful consultation and everlasting support.

I also wish to express deep appreciation to all members of the thesis committee for spending their times to be on my thesis committee and for their suggestion and comments. I have listened very carefully to every piece of advice and encouraging comment from them and absorbed all of the information I have received from them.

I would like to express my infinite thanks and deepest gratitude to all staffs in the Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy for their assistance and encouragement. I am really thankful to my seniors and my friends for their friendship, consultation, guidance, suggestion, helpful thoughts and kindness.

This research was financially supported by the Thailand Research Fund – Master Research Grants (TRF-MAG; MRG555S102) in collaboration with T.O. Chemicals (1979) Ltd.

Lastly, I would also like to thank my family and closest friends for their assistance, creating an environment and motivating me throughout this work and for helping me to become the person I am today.



## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT .....	iv
ENGLISH ABSTRACT .....	v
ACKNOWLEDGEMENTS .....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES .....	xi
LIST OF FIGURES.....	xii
LIST OF ABBREVIATIONS .....	xv
Chapter I.....	1
INTRODUCTION .....	1
Objectives of the present study .....	4
CHAPTER II.....	5
LITERATURE REVIEW .....	5
1. THE MODEL DRUG.....	5
2. TASTE MASKING AGENT.....	8
3. TASTE MASKING TECHNOLOGIES .....	9
4. PROCESS ANALYTICAL TECHNOLOGY (PAT) .....	11
5. NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY (NIRs).....	14
5.1 Spectral region of near infrared radiation.....	14
5.2 Spectral region of near infrared radiation.....	15
5.3 Vibrations .....	16
5.4 Fourier-transform spectrophotometer (Michelson interferometer).....	19
5.5 Acquisition of spectral data.....	20
6. CHEMOMETRIC .....	23
6.1 Signal pretreatment examples .....	24
6.2 Classification method example.....	27
6.3 Multivariate regression method example .....	29
CHAPTER III.....	31

1718429995



	Page
MATERIALS AND METHODS .....	31
Materials.....	31
Instruments .....	31
Experimental methods.....	32
1. Taste-masked azithromycin dry powder preparation.....	32
2. Physicochemical Characterization.....	35
2.1 Powder X-ray Diffractometry (PXRD).....	35
2.2 Polarized light microscopy .....	36
2.3 Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....	36
2.4 Thermo Gravimetric Analysis (TGA) .....	36
2.5 Fourier Transform Infrared spectroscopy (FT-IR).....	36
2.6 Near-Infrared spectroscopy (NIRs).....	37
3. Process Analytical Technology (PAT) of at-line applications in taste-masked azithromycin dry powder preparation.....	37
3.1 Qualitative analysis .....	37
3.1.1 Primary method.....	38
3.1.2 Secondary method (Principal Component Analysis: PCA)..	38
3.2 Quantitative analysis.....	39
3.2.1 Primary method.....	39
3.2.2 Secondary method (Partial Least Squares regression: PLS)42	42
3.3 Critical sampling points evaluation .....	43
4. In vitro evaluation of taste-masked azithromycin dry powder .....	44
Chapter IV .....	45
RESULTS AND DISCUSSION.....	45
1. Taste-masked azithromycin dry powder preparation .....	45
1.1 Blending in Erweka® AR400 Universal Lab Mixer .....	45
1.2 Blending in PMS® MG15T high speed mixer.....	46
2. Physicochemical characterization .....	47



1718429995



	Page
2.1 Powder X-ray Diffractometry (PXRD) .....	47
2.2 Polarized light microscopy .....	48
2.3 Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	49
2.4 Thermo Gravimetric Analysis (TGA) .....	50
2.5 Fourier Transform Infrared spectroscopy (FT-IR).....	53
2.6 Near-infrared spectroscopy (NIRs).....	55
3. Process Analytical Technology (PAT) of at-line applications in taste-masked azithromycin dry powder blending process.....	56
3.1. Qualitative analysis.....	56
3.1.1 Primary method.....	57
3.1.2 Secondary method (Principal Component Analysis: PCA) .....	57
3.2 Quantitative analysis.....	61
3.2.1 Primary method.....	61
3.2.2 Secondary method (Partial Least Squares regression: PLS).....	64
3.3 Critical sampling points evaluation .....	71
4. In Vitro of taste-masking azithromycin powder evaluation.....	75
Chapter V .....	78
CONCLUSIONS.....	78
APPENDICES .....	80
APPENDIX A .....	81
APPENDIX B .....	82
APPENDIX C .....	86
REFERENCES.....	87
VITA .....	99



171842995

## LIST OF TABLES

Table 1 Summary of the process settings for the continuous blending trials of taste-masked azithromycin powder by using Erweka <sup>®</sup> AR400 Universal Lab Mixer.....	33
Table 2 Summary of the process settings for the continuous blending trials of taste-masked azithromycin powder by using PMS <sup>®</sup> MG15T mixer.....	34
Table 3 Conclusion of at-line PAT in taste-masked blending process analysis.....	43
Table 4 The proportion of AZD, in average percentage, of each of mixture from each cycle with their standard deviations (SD) and %RSD during taste masking process using PMS <sup>®</sup> MG15T high speed mixer.....	62
Table 5 Development of statistical model by partial least square: PLS.....	70
Table 6 Comparison of AZD concentration in each products for in vitro taste-masking evaluation.....	76
Table 7 Comparison of AZD concentration products for in vitro taste-masking evaluation for three consecutive days.....	77
Table 8 Intra and inter-day variations for the HPLC method for determination of azithromycin dihydrate.....	84
Table 9 Accuracy/recovery of the proposed method.....	84
Table 10 The proportion amount percentage of Azithromycin dihydrate in mixture of AZD and EPO in PMS <sup>®</sup> MG15T high speed mixer.....	85



## LIST OF FIGURES

Figure 1 Chemical structure of azithromycin dihydrate.....	5
Figure 2 General diagram of taste receptor function.....	7
Figure 3 Chemical structure of Eudragit® E PO.....	8
Figure 4 General taste masking principles (Douroumis 2007). ....	10
Figure 5 Scheme of a process analytical technology (PAT). ....	13
Figure 6 Electromagnetic wavelength.....	15
Figure 7 Symmetric and asymmetric stretching vibrations.....	16
Figure 8 Types of bending vibrations.....	17
Figure 9 Schematic representation of harmonic (A) and anharmonic.....	17
Figure 10 Schematic of the Michelson interferometer.....	20
Figure 11 Schematic of measuring mode for (a) Transmission (b) Diffuse reflection on solid samples and (c) Transflection. (Pasquini 2003).....	22
Figure 12 Spectra of moving pharmaceutical pellets with different API contents: comparison between NIRs spectra (a) before and (b) after MSC signal pretreatment (Mantanus 2012). ....	25
Figure 13 Spectra of moving pharmaceutical pellets with different API contents: comparison between NIRs spectra (a) before and (b) after SNV signal pretreatment (Mantanus 2012). ....	26
Figure 14 Comparison between NIRs spectra: Caffeine granules in polyethylene bag (red) and caffeine powder in polyethylene bag (green) (a) before and (b) after first derivative signal pretreatment. The Savitsky-Golay smoothing filter is applied before the first derivative signal pretreatment. The smoothing filter polynomial order is 2 and the filter width is 25 corresponding to $96.25 \text{ cm}^{-1}$ (Mantanus 2012). .....	26
Figure 15 Geometric principle of PCA transformation.....	27
Figure 16 Schematic illustration of the blending chamber in Erweka® AR400 Universal Lab Mixer. Measurement positions using NIRs fiber optic probe are indicated by numeric symbols. ....	32



Figure 17 Schematic illustration of the blending chamber in PMS <sup>®</sup> MG15T high speed mixer. Measurement positions using NIRs fiber optic probe are indicated by numeric symbols.....	34
Figure 18 X-ray diffraction patterns for azithromycin dihydrate (blue), Eudragit <sup>®</sup> E PO (green) and final mixture of Eudragit <sup>®</sup> EPO and AZD in solid ratio of 0.4:1 (red).....	47
Figure 19 Polarized light photomicrographs of (a) azithromycin dihydrate (AZD), (b) Eudragit <sup>®</sup> E PO (EPO), (c) final mixture of EPO and AZD in solid ratio of 0.4:1.....	48
Figure 20 DSC thermograms of AZD (black), EPO (red) and final mixture of EPO and AZD in solid ratio of 0.4:1 (blue).....	50
Figure 21 TGA thermogram of azithromycin dihydrate (AZD).....	51
Figure 22 TGA thermogram of Eudragit <sup>®</sup> E PO (EPO).....	51
Figure 23 TGA thermograms of final mixture of Eudragit <sup>®</sup> E PO and AZD in solid ratio of 0.4:1 before and after drying.....	52
Figure 24 FT-IR spectra of AZD (purple), EPO (red) and final mixture of EPO and AZD in solid ratio of 0.4:1 (blue).....	53
Figure 25 NIRs absorbance spectra for samples of AZD (red line), EPO (light green line) and final mixtures of AZD and EPO (other lines). ....	55
Figure 26 NIRs absorbance for mixtures of AZD and Eudragit <sup>®</sup> E PO spectral transformation from (a) conventional spectra to (b) the first derivative filtering pretreatment. ....	58
Figure 27 Principal Component Analysis (PCA) for (a) Eudragit <sup>®</sup> E PO used in AZD dry powder preparations from 0.1 to 0.4 and (b) blending time from premixing (PM) time to 30 minutes (M30).....	59
Figure 28 The average percent AZD amounts analyzed during 20 run cycles when mixed with Eudragit <sup>®</sup> E PO by PMS <sup>®</sup> MG15T. ....	63
Figure 29 The percent relative standard deviation indicating homogeneity states of 20 run cycles mixing by PMS <sup>®</sup> MG15T. ....	63
Figure 30 The linear regression model for non-pretreated NIRs calibration and validation spectra.....	65
Figure 31 The linear regression model for NIRs calibration and validation by first derivative pretreatment.....	66



1718429995

Figure 32 The linear regression model for NIRs calibration and validation by first derivative pretreatment with Savitzky-Golay filter.....	66
Figure 33 The linear regression model for NIRs calibration and validation by first derivative pretreatment with Norris derivative filter. ....	67
Figure 34 The linear regression model for NIRs calibration and validation by secondary derivative pretreatment with Savitsky-Golay filter. ....	68
Figure 35 The linear regression model for NIRs calibration and validation by secondary derivative pretreatment with Norris derivative filter.....	68
Figure 36 Discriminant distance for sampling points of Eudragit <sup>®</sup> E PO and AZD solid ratio of 0.1:1 in Erweka <sup>®</sup> AR400 Universal Lab Mixer.....	72
Figure 37 Discriminant distance for sampling points of Eudragit <sup>®</sup> E PO and AZD solid ratio of 0.2:1 in Erweka <sup>®</sup> AR400 Universal Lab Mixer.....	72
Figure 38 Discriminant distance for sampling points of Eudragit <sup>®</sup> E PO and AZD solid ratio of 0.3:1 in Erweka <sup>®</sup> AR400 Universal Lab Mixer.....	73
Figure 39 Discriminant distance for sampling points of Eudragit <sup>®</sup> E PO and AZD solid ratio of 0.4:1 in Erweka <sup>®</sup> AR400 Universal Lab Mixer.....	73
Figure 40 Discriminant distance of sampling points for mixture of Eudragit <sup>®</sup> E PO and AZD in solid ratio of 0.4:1 by PMS <sup>®</sup> MG15T high speed mixer.....	74
Figure 41 Group frequency and fingerprint regions of the mid-infrared spectrum. ....	81
Figure 42 Group frequency and fingerprint regions of the near-infrared spectrum. ....	81
Figure 43 HPLC chromatogram of azithromycin dihydrate (model drug) at wavelength 210 nm.....	82
Figure 44 Linearity plot for azithromycin dihydrate drug substance. ....	83
Figure 45 UV peak curve of azithromycin dihydrate.....	86
Figure 46 Standard calibration curve for azithromycin dihydrate concentration and UV-absorbance at 213 nm. ....	86



## LIST OF ABBREVIATIONS

PAT	process analytical technology
PAC	process analytical chemistry
ICH	the international conference on harmonization
QbD	quality by design
NIR	near infrared spectroscopy
FT-IR	fourier transformed infrared spectroscopy
PCA	principal component analysis
PLS	partial least square
DSC	differential scanning calorimetry
TGA	thermo gravimetric analysis
AZD	azithromycin dihydrate
EPO	Eudragit® E PO
RTR	real time release
PXRD	powder X-ray diffractometry
CQA	critical quality attributed
MSC	multiplicative scatter correction
SNV	standard normale variate
HPLC	high performance liquid chromatography
API	active pharmaceutical ingredient
RMSEC	root mean square error of calibration
RMSEP	root mean square error of prediction
RMSE	root mean square error
$R^2$	coefficient of determination