

# Kokristali u farmaceutskoj industriji

---

Lilić, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:512146>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Matea Lilić

**ZAVRŠNI RAD**

Zagreb, rujan 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Matea Lilić

**KOKRISTALIZACIJA U FARMACEUTSKOJ INDUSTRIJI**  
**ZAVRŠNI RAD**

Voditelj rada: prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

prof. dr. sc. Aleksandra Sander

Lidija Furač, v. pred. dr. sc.

Zagreb, rujan, 2017.

## **SAŽETAK RADA**

Na farmaceutskom tržištu postoje lijekovi različitih oblika, sastava i namjena. Poboljšavanje njihovih fizikalno-kemijskih svojstva glavni je cilj istraživanja u farmaceutskoj industriji. Vodeći problemi jesu loša topljivost lijekova i njihova slaba biorasploživost, zbog kojih na tržište dopiše manje od 1% djelatnih farmaceutskih tvari. Moguće rješenje nudi se u primjeni kokristalizacije u kristalnom inženjerstvu kojom se omogućuje modificiranje i poboljšavanje fizikalno-kemijskih svojstva djelatnih farmaceutskih tvari uz istodobno zadržavanje intrizične aktivnosti i strukture molekule lijeka.

**Ključne riječi:** Biorasploživost, djelatne farmaceutske tvari, kokristalizacija, topljivost

## **ABSTRACT**

There are many drugs on pharmaceutical market characterized by different solid state, composition and purpose. Enhancement of their physicochemical properties is one of the main goals of many researches in pharmaceutical industry. Main issues are low solubility and poor bioavailability of drugs, causing that less than 1% of active pharmaceutical ingredients reaches the market. Application of co-crystallization in crystallization engineering can possibly provide solutions to these challenges by modifications and improvement of physicochemical properties of the active pharmaceutical ingredients while maintaining the intrinsic activity of the drug molecule.

**Keywords:** Active pharmaceutical ingredients, bioavailability, co-crystallization, solubility

### *Zahvala*

*Zahvaljujem se mentorici, prof.dr.sc.Jasni Prlić Kardum na strpljenju ,nesebičnom vremenu i savjetima,podršci i znanju.*

*Iskreno i veliko hvala Bogu, obitelji i prijateljima na prekrasnoj podršci,strpljenju,ljubavi i vremenu. Na svemu.*

# SADRŽAJ

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. UVOD</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>2. OPĆI DIO</b> .....   | <b>2</b>  |
| <b>2.1. KRISTALIZACIJA IZ OTOPINE</b> .....                          | <b>2</b>  |
| 2.1.1. Načini vođenja kristalizacije .....                           | 3         |
| <b>2.2. TOPLJIVOST</b> .....   | <b>3</b>  |
| <b>2.3. NUKLEACIJA</b> .....   | <b>4</b>  |
| <b>2.4. RAST KRISTALA</b> .....                                      | <b>5</b>  |
| <b>2.5. POJAVNI OBLICI ČVRSTIH OBLIKA FARMACEUTSKE TVARI</b> .....   | <b>6</b>  |
| <b>2.6. TEHNIKE KARAKTERIZACIJE KOKRISTALA</b> .....                 | <b>8</b>  |
| <b>2.7. KOKRISTALIZACIJA</b> .....                                   | <b>10</b> |
| 2.7.1. Kokristali u odnosu na solvate .....                          | 12        |
| 2.7.2. Kokristali u odnosu na soli .....                             | 12        |
| 2.7.3. Kokristali farmaceutskih djelatnih tvari .....                | 12        |
| 2.7.4. Načini dobivanja .....  | 14        |
| 2.7.5. Fizikalno-kemijska svojstva .....                             | 16        |
| <b>3. PRIMJERI IZ LITERATURE</b> .....                               | <b>20</b> |
| 3.1. Rosuvastatin .....  | 20        |
| 3.2. Nilotinib hidroklorid .....                                     | 21        |
| 3.3. Farmaceutski kokristali fluoksetin hidroklorida (Prozac®) ..... | 22        |
| 3.4. Kokristal melanina i cijanurne kiseline .....                   | 23        |
| 3.5. Kokristal indometacina .....                                    | 24        |
| 3.6. Kurkumin .....  | 25        |
| <b>4. ZAKLJUČAK</b> .....  | <b>27</b> |
| <b>5. LITERATURA:</b> .....  | <b>28</b> |

## 1.UVOD

Riječ kristal vuče korijene iz starogrčke riječi κρύσταλλος (*krustallos*), koje ima značenje "leda" i "kamenog kristala", iz riječi κρύος (*kruos*). Samo podrijetlo riječi ukazuje na jednu od najstarijih preparativnih i separacijskih metoda, kojom se i danas dobiva veliki broj komercijalnih proizvoda kemijske, farmaceutske i prehrambene industrije. Kristalizacija se provodi zbog nastajanja nove faze, čišćenja kristala ili separacije smjese. Neovisno o tome da li se kristalizacija provodi iz otopine, taline ili pare, nastali kristali zahtijevaju naknadnu obradu. Budući da je veličina kristala i njihova raspodjela jako bitna, kristalizacijom se žele dobiti kristali odgovarajuće čistoće i odgovarajućih granulometrijskih karakteristika (oblik, veličina i raspodjela veličina kristala).<sup>1</sup>

Postoji značajna poveznica između kemije čvrstog stanja i farmaceutske znanosti. Veliki broj svojstava organskih molekula u krutom stanju, kao što su stabilnost u otopini, topljivost, mogućnost tabletiranja, temperaturna otpornost te stabilnost u vlažnim uvjetima uvelike ovisi o njihovoj strukturi na molekulskoj i supramolekulskoj razini. To se odnosi na kristalnu strukturu, drugim riječima na veličinu čestica i njihovu morfologiju. Jedan od glavnih ciljeva farmaceutske industrije jest razvoj novih strategija i metoda kojima bi se moglo utjecati na svojstva farmaceutske djelatne tvari u čvrstom stanju. To se može postići modificiranjem prostornog rasporeda i povezanosti molekula u samoj krutini, kao primjerice pripremom amorfno materijala. Stvaranjem novih polimorfa, solvata, soli i u novije vrijeme, kokristala.<sup>1</sup>

Kokristali se sastoje od farmaceutske djelatne tvari i stehiometrijskog omjera farmaceutski prihvatljivih kokristalnih tvari. Kokristalizacijom se mijenjaju molekularne interakcije i sastav farmaceutskih materijala bez da se mijenja kemijski sastav farmaceutske djelatne tvari.

Farmaceutske djelatne tvari, API (*eng. Active Pharmaceutical Ingredients*), čine 'aktivnu' komponentu svakog lijeka. Reakcije i rezultati djelovanja API-ja se razlikuju od lijeka do lijeka, ovisno o njihovom sastavu i dozi. U pravilu se radi o organskim molekulama, odnosno organskim makromolekulama, koji djeluju na ciljano mjesto u organizmu. Drugim riječima interagiraju na specifičan način sa molekulama imunološkog, živčanog, limfnog, probavnog ili dišnog sustava, krvotoka ili nekog vrsta tkiva (kosti, mišići, koža).



## 2.OPĆI DIO

### 2.1. KRISTALIZACIJA IZ OTOPINE

Kristalizacija je toplinski separacijski proces koji se koristi u svrhu nastajanja nove faze, čišćenja kristala ili separacije smjese. Iz amorfne faze nastaje barem jedna kristalna faza faznom promjenom: kristalizacijom iz otopine, kristalizacijom iz taline ili desublimacijom iz parne faze.<sup>2</sup>

Pokretačka sila procesa kristalizacije je odstupanje od ravnoteže, odnosno razlika koncentracije otopljene komponente u prezasićenoj otopini i upravo zasićenoj otopini. Otopina postaje prezasićena ako se snižava temperatura otopine hlađenjem ili ako se iz otopine uklanja dio otapala ishlapljivanjem ili otparavanjem. Dio otopljene tvari prelazi u čvrstu fazu i formira kristale određene strukture. Proces formiranja kristalnih jezgri iz kojih dalje nastaju kristali određene veličine.

Proces kristalizacije dijelimo na:

- Postizanje prezasićenosti
- Stvaranje jezgri uslijed narušavanja ravnoteže faza-nukleacija
- Rast kristala u otopini

Uvjeti koji pogoduju stvaranju velikog broja nukleusa:

- Naglo hlađenje
- Miješanje velikog intenziteta
- Visoka temperatura
- Mala molekularna težina otopljene tvari

Pažljivom regulacijom temperature tvar može kristalizirati u željenoj kristalnoj formi. Prisutnost nečistoća u otopini može utjecati na topljivost te usporiti brzinu nukleacije i rast kristala. Krupne kristale stvara mali broj jezgri, dok veliki broj jezgri stvara sitne kristale pločastog ili igličastog oblika.

### 2.1.1. Načini vođenja kristalizacije

Kristalizacija se može provesti iz taline, otopine i plinske faze.

**Kristalizacija iz taline:** talina se sastoji od dvije ili više komponenti različitih temperatura tališta. Hlađenjem taline dolazi do parcijalnog nastajanja kristala drugačijeg sastava od početne taline. Komponenta s većom temperaturom tališta obogaćuje se kristalima, a separacija kristala iz taline je djelomična. Potpuna separacija nastaje višestupnjevitom kristalizacijom u sustavima s potpunim miješanjem komponenti te sustavima u kojima nastaju miješani kristali.

**Kristalizacija iz otopine:** potrebna pokretačka sila kod kristalizacije iz otopine može se osigurati bez i sa pomoćnom komponentom. Ukoliko se provodi bez pomoćne komponente, prezasićenost se osigurava isparavanjem otapala, hlađenjem otopine ili zaleđivanjem otapala. Način na koji se kristalizacija provodi utječe na granulometrijska svojstva kristala.

**Kristalizacija iz plinske faze:** provodi se odvođenjem topline iz sustava pri čemu se komponenta koja desublimira direktno prevodi u kristale. Proces separacije je parcijalan jer preostala plinska smjesa sadrži određenu količinu desublimacijske tvari. Separacija smjese može se poboljšati višestupnjevitim protustrujnim procesom.<sup>2</sup>

## 2.2. TOPLJIVOST

Otopine se sastoje od dviju ili više komponenata, od kojih je jedna otapalo, a ostale su otopljene tvari. Otapanjem čvrstih tvari u otapalu dobijemo homogenu otopinu. Pri određenoj temperaturi, postoji maksimalna količina čvrste tvari koja se može otopiti u danoj količini otapala. Kad je postignut maksimum, otopina je zasićena, a količina tvari koja se može otopiti u nekom otapalu pri određenoj temperaturi, a da pri tom nastala otopina bude u ravnoteži, naziva se topljivost.<sup>3</sup>

Za dizajn i samu provedbu procesa, poznavanje topljivosti u sustavu od presudne je važnosti. Naime, prisutnost nečistoća u otopini može utjecati na topljivost te usporiti brzinu nukleacije i rast kristala. Do podataka o topljivosti sustava dolazi se jednostavnim eksperimentalnim

mjerenjima. Jedan od načina određivanja topljivosti je mjerenja pri konstantnoj temperaturi uz ostvareno dobro miješanje sustava.

Poznavanje topljivosti omogućuje određivanje količine komponente koja se može otopiti u određenom otapalu kao i količinu komponente koja će zaostati u otapalu na kraju procesa. Podatke o topljivosti soli u ovisnosti o temperaturi važno je i za određivanje načina provedbe procesa kristalizacije. Nadalje, poznavanje topljivosti sustava potrebno je za određivanje prezasićenosti te kinetike procesa.<sup>4</sup>

Topljivost ovisi o :

- Temperaturi
- Vrsti otapala
- Aditivima
- pH otopine
- Prisutnim nečistoćama

Povećanjem temperature otopine, za većinu slučajeva raste topljivost, međutim ukoliko se topljivost povećanjem temperature smanjuje kristalizacija hlađenjem nije moguća, te je potrebno provesti kristalizaciju isparavanjem.

### **2.3. NUKLEACIJA**

U kristalizaciji otopina mora biti prezasićena da bi došlo do formiranja kristala. Kao što je vidljivo iz dijagrama topljivosti, prije nego što dođe do nukleacije, prezasićenost mora biti iznad određene vrijednosti. Ako je prezasićenost niska, kao što je to u slučaju dijela dijagrama nazvanog metastabilno područje, nukleacija neće započeti. Nukleacija započinje tek kada je prezasićenost postigla dovoljno veliku vrijednost da bude u nestabilnoj zoni dijagrama topljivosti. U tom trenutku kristali počinju rasti, a prezasićenost se smanjuje. Ako je prezasićenost previsoka, stupanj nukleacije je prevelik što rezultira stvaranjem sitnih kristala sklonih aglomeraciji.<sup>5</sup>

Brzina nukleacije uglavnom ovisi o stupnju prezasićenosti otapala.

Na brzinu nukleacije i širinu metastabilne zone utječu:

- Nečistoće – prisutnost nečistoća kao i topljivih dodataka koji uglavnom smanjuju širinu metastabilne zone
- Mehanički utjecaji (miješanje, trešenje, ultrazvučno djelovanje ili koja druga mehanička energija koja djeluje na otopinu) – smanjuju širinu metastabilne zone
- pH
- Viskoznost
- Temperatura otopine – širina metastabilne zone se smanjuje povećanjem temperature <sup>2</sup>

## 2.4. RAST KRISTALA

Rast kristala je proces koji slijedi nakon nukleacije prilikom kojeg dolazi do vezivanja molekula iz otopine na površinu postojećih kristala. Do izdvajanja veće mase kristala dolazi dakle tek kada nukleusi počnu rasti, gradeći svoju kristalnu rešetku, rezultat čega je i znatna promjena sastava otopine. Ovaj korak je pod utjecajem vanjskih (temperatura, nečistoće, prekomjerna zasićenost, vrsta otapala) i unutarnjih (kristalna struktura) čimbenika, koji u konačnici određuju morfologiju čestica.

Rast kristala opisuje se promjenom neke karakteristične dimenzije kristala s vremenom.

Primjeri izražavanja brzine rasta kristala:

- ukupna brzina rasta,  $R_g$ , definirana kao količina izlučene tvari podijeljene s površinom kristala po vremenu,  $dm_c / (dt * A_{tot})$  ili kao
- linearna brzina rasta određene kristalne plohe,  $G$ , definirana kao pomak jedne plohe rastućeg kristala u smjeru normale u vremenu,  $dL_a / dt$  često i kao
- ukupna linearna brzina rasta kristala,  $dr/dt$ , definirana kao vremenska derivacija polumjera kugle volumena jednakog volumenu kristala.

Izrazi za brzinu rasta kristala povezuju brzinu rasta kristala s prezasićenosti otopine. Kao najjednostavnijim načinom za povezivanje ovih varijabli pokazala se empirijska korelacija

koja dovodi u vezu ukupnu brzinu rasta ( $R_g$ ) i ukupnu pokretačku silu (razliku koncentracija) :

$$R_g(t) = \frac{dm_c}{dt * A_{tot}} = k_g * \left( \frac{\Delta C(t)}{C_s(t)} \right)^g \quad (1)$$

Gdje je  $g$  red rasta i obično se kreće u rasponu od 1-2,  $k_g$  je konstanta brzine rasta, koja je funkcija temperature, relativne brzine gibanja kristala/otopine i nečistoća prisutnih u sustavu.

## 2.5. POJAVNI OBLICI ČVRSTIH OBLIKA FARMACEUTSKE TVARI

Među pojavne oblike djelatnih tvari uvrštavamo polimorfne oblike, pseudopolimorfne oblike (solvate, hidrate) kokristale i amorfne. Vjerojatnost da djelatna tvar postoji u različitim pojavnim oblicima je velika. Učestalost postojanja više od jedne čvrste forme malih organskih molekula je između 56% i 87%.

### Polimorfi

Polimorfija (grčki: *poli* = mnogo; *morph* = oblik) je sposobnost tvari da postoji u dvije ili više kristalnih formi, koje se razlikuju rasporedom molekula u kristalnoj rešetci. Polimorfi se često susreće kod djelatnih tvari koje su većinom male organske molekule, molekulskih masa manjih od 600 g/mol. Prema literaturi učestalost pojavljivanja pravih polimorfa kod malih organskih molekula kreće se između 32% i 51%.

### Pseudopolimorfni oblici

Pod pseudopolimorfne oblike ubrajamo solvate i hidrate. Tijekom procesa pripreme djelatne tvari, ali i procesa pripreme konačnog oblika, djelatna tvar dolazi u kontakt s različitim otapalima. Molekule otapala mogu biti vezane za djelatnu tvar adsorpcijom na površini kristala slabim međumolekulskim interakcijama, mogu biti zarobljene u unutrašnjosti kristala tijekom rasta kristala ili mogu zajedno s molekulama djelatne tvari formirati nove čvrste forme, solvate, u kojima su molekule otapala povezane u kristalnu rešetku vodikovim i Van der Waalsovima vezama. Molekule vode često formiraju solvate s organskim molekulama djelatnih tvari, one se nazivaju hidrati. Solvati, odnosno hidrati, dijele se na dvije glavne skupine, stehiometrijske i nestehiometrijske. Stehiometrijski solvati podrazumijevaju da je

omjer između broja molekula djelatne tvari i broja molekula otapala konstantan. Desolvatacija takvih solvata obično uzrokuje promjenu kristalne strukture ili rezultira u nastajanju neuređene, amorfne faze. Nestehiometrijski solvati obično imaju molekule otapala smještene u strukturalnim šupljinama koje često formiraju kanale duž kristalne rešetke. Prilikom njihove desolvatacije, kristalna struktura se najčešće ne mijenja.

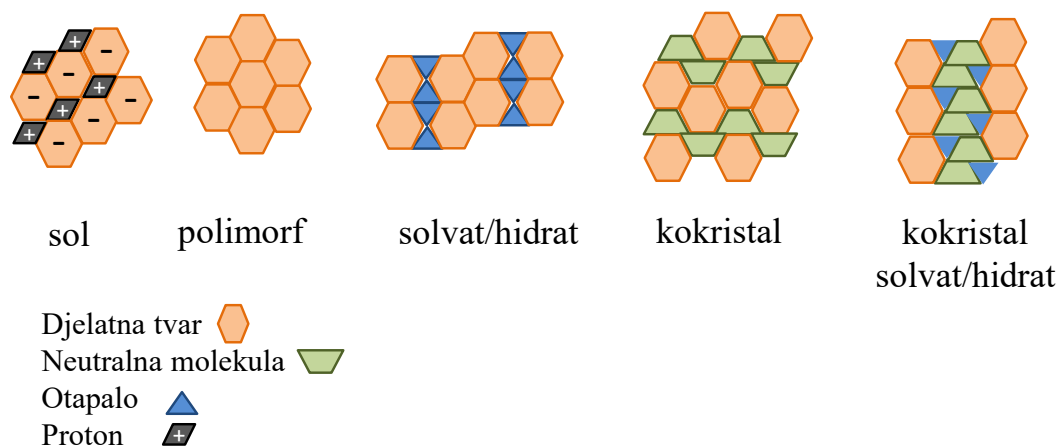
Za razliku od hidrata, djelatne tvari u obliku solvata, zbog svoje potencijalne nestabilnosti kao i potencijalne toksičnosti otapala nisu poželjan izbor za stvaranje finalnog oblika.

### **Amorfi**

Tvari u amorfnom obliku su najčešće termodinamički nestabilne i sklone promjeni strukture u kratkom vremenu što je vrlo nepovoljno u procesu proizvodnje lijekova. Ono zbog čega je ovaj oblik interesantniji za farmaceutsku industriju od njihovih kristalnih formi, je zbog njihove veće topljivosti i brzine otapanja, a time i veće bioraspodivnosti. Omjer topljivosti između amornog i kristalnog oblika iste djelatne tvari mnogo je veći od omjera topljivosti između različitih polimorfa iste djelatne tvari. Osim veće topljivosti i tendencije kristalizaciji, amorfni materijali su obično i kemijski nestabilniji te imaju tendenciju adsorpcije vode. Prevencija kristalizacije amorfa jedan je od glavnih preduvjeta formuliranja amorfa u finalni dozirni oblik.<sup>6</sup>

### **Kokristali**

Kokristali su višekomponentni kristali, kod kojih su barem dvije komponente samostalno, pri sobnim uvjetima, krutine. Kokristali su po strukturi homogeni kristali koji sadrže dvije ili više komponente u definiranom stehiometrijskom omjeru. Komponente kokristala su neutralne molekule reaktanata koji su krutine pri sobnoj temperaturi. Farmaceutski kokristali su prema ovoj definiciji kokristali u kojima jednu komponentu čini farmaceutska djelatna tvar dok drugu komponentu čini tzv. molekula koformera.<sup>16</sup>



**Slika 1.** Shematski prikaz pojava čvrste tvari

## 2.6. TEHNIKE KARAKTERIZACIJE KOKRISTALA

Karakterizacija kokristala je važan sastavni dio njihova istraživanja. Neke od uobičajenih metoda karakterizacije osnovnih svojstava kokristala jesu difrakcija rendgenskih zraka na kristalu (*Single Crystal X-Ray Diffraction*, SXR), difrakcija rendgenskih zraka na praškastom uzorku (*Powder X-ray Diffraction*, PXR), infracrvena spektroskopija (IR), Ramanova spektroskopija, nuklearna magnetska rezonancija čvrstog stanja (*Solid State Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, SSNMR), diferencijalna pretražna kalorimetrija (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC), pretražna elektronska mikroskopija (*Scanning Electron Microscopy*, SEM).

### Difrakcija rendgenskih zraka na kristalu (SXR),

Difrakcija rendgenskih zraka na kristalu osnovna je tehnika karakterizacije čvrstih oblika kokristala na razini atoma i molekula. Međutim, problem je u tome što se pojedini farmaceutski kokristal često ne može proizvesti u obliku primijenjenom za ovu difrakciju.

### Difrakcija rendgenskih zraka na praškastom uzorku (PXR)

Za razliku od prethodne metode, difrakcija rendgenskih zraka na praškastom uzorku (kristali prosječne veličine 10  $\mu\text{m}$ ) ne zahtijeva velike, savršene kristale. Iako ovu metodu karakterizira nemogućnost razlikovanja solvata, hidrata ili polimorfa od kokristala, vrlo je korisna u proučavanju međusobnih prijelaza polimorfa pri različitim uvjetima kao i za proučavanje procesa desolvacije.

## **Infracrvena spektroskopija (IR)**

IR je uobičajena spektroskopska tehnika u određivanju kemijske konformacije spojeva. Može biti vrlo moćan alat u razlikovanju kokristala od soli u nekim slučajevima.

## **Ramanova spektroskopija**

Ramanovom spektroskopijom ispituju se vibracijska, rotacijska i druga niskoenergetska sistemska pobuđenja. Temelji se na neelastičnom raspršenju monokromatske svjetlosti, obično iz lasera. Kako ne postoje dvije različite molekule s istim vibracijama, Ramanov spektar smatra se "otiskom prsta" molekule. Koristi se u identifikaciji polimorfa, u proučavanju njihovih međusobnih transformacija, u kvantifikaciji pojedinih polimorfa u smjesama, za određivanje orijentacije kristala, u proučavanju hidrata kao i u analizi djelatne farmaceutske tvari unutar finalnog oblika lijeka.

## **Nuklearna magnetska rezonancija čvrstog stanja (SSNMR)**

Nuklearna magnetska rezonancija čvrstog stanja često se koristi za obilježavanje čvrste faze koje se ne mogu proučavati SXR D metodom. Daje informacije o fizikalnim i kemijskim svojstvima čvrstih formi, omogućuje specifičnu analizu elemenata različitih nukleusa. koristi se u istraživanju i razvoju lijekova, (za identifikaciju i kvantifikaciju polimorfa, smjesa polimorfa (hidrata/solvata) kao i karakterizaciju farmaceutskih kokristala. Kako NMR čvrstih oblika nije destruktivna metoda, materijal korišten za analiziranje može se koristiti i za analizu drugim tehnikama.

## **Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)**

Diferencijalna pretražna kalorimetrija jedna je od najčešće korištenih termičkih metoda u proučavanju kokristala. Mjeri se toplinski tok povezan s transformacijama kao funkcijom vremena i temperature. Ova tehnika omogućuje prikupljanje sveobuhvatnih podataka o fizikalnim i kemijskim promjenama koje uključuju endotermne ili egzotermne procese. Nadalje, služi i za određivanje temperatura tališta, vrelišta, staklišta, vremena i temperature kristalizacije, entalpije tališta, termičke stabilnosti i kemijske i polimorfne čistoće.



## **Pretražna elektronska mikroskopija (SEM)**

Vrsta optičkog mikroskopa koji usmjerava visoko-energetski snop elektrona sustavom elektromagnetskih leća prema površini uzorka. Elektroni međudjeluju sa atomima uzorka proizvodeći signale koji sadrže informacije o topografiji površine promatranih uzoraka. Ovom metodom mogu se dobiti slike površine uzoraka visoke rezolucije koje prikazuju detalje manje od 1 nm veličine. U mnogobrojnim primjerima ovom metodom određena je veličina čestica kokristala. Pretražni elektronski mikroskop omogućava do 250 puta veće uvećanje od najboljih svjetlosnih mikroskopa.<sup>16</sup>

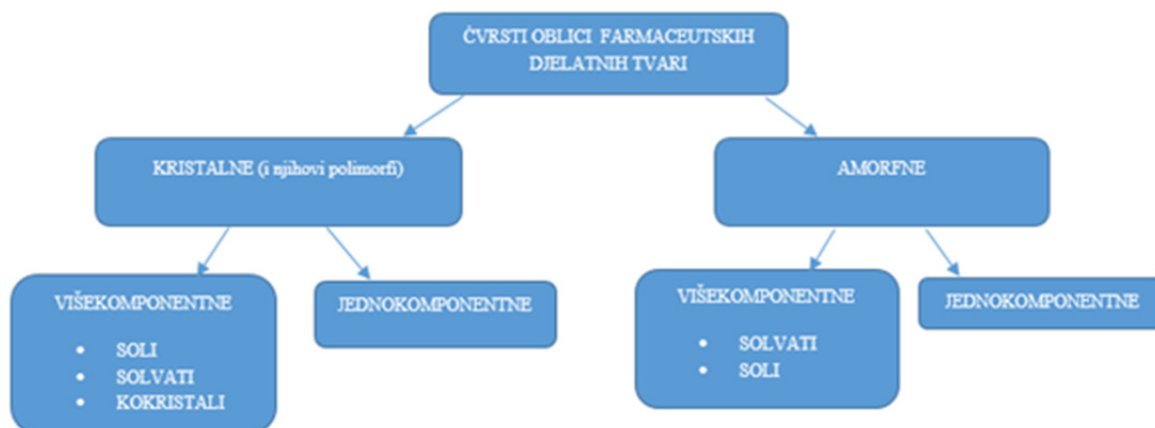
## **2.7. KOKRISTALIZACIJA**

Pogled na kristalizaciju tijekom posljednjih pet desetljeća bitno se promijenio. U prošlosti se smatralo kako jedna tvar može kristalizirati na samo jedan način. Danas, empirijski znamo da jedna tvar može kristalizirati u više različitih kristalnih formi, a svaka forma ima drugačija fizikalno-kemijska svojstva.

Kokristali su privukli pažnju kao alternativni čvrsti oblik u razvoju lijekova. U kristalnoj rešetki zajedno su inkorporirane farmaceutski prihvatljive 'gostujuće' molekule i djelatna tvar. Na ovaj način dobivaju se kokristali poboljšanih fizikalno-kemijskih svojstava procesom kokristalizacije.<sup>8</sup>

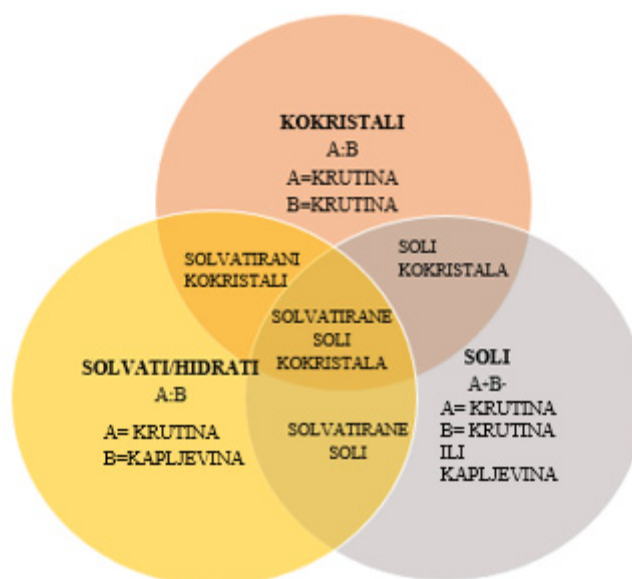
Kokristalizacija je rezultat kompeticije molekularnih veza između sličnih molekula, ili homomera i različitih molekula ili heteromera. Vodikove veze su baza molekulskog prepoznavanja pojava u farmaceutskim sustavima i odgovorne su za stvaranje molekulskih veza između jednakih molekulskih komponenti (jednokomponentni kristali i njihovi polimorfi) i različitih molekulskih komponenti (više-komponentni kristali ili kokristali) u obliku kristala.<sup>10</sup>

Prema klasifikaciji čvrstih oblika farmaceutskih djelatnih tvari prikazanoj na slici 2 soli, solvati i kokristali spadaju u više-komponentne molekulske kristale.



**Slika 2.** Klasifikacija čvrstog oblika farmaceutski djelatnih tvari, bazirana na strukturi i sastavu

Zbog same prirode višekomponentnih krutina, postoji značajno preklapanje u definiranju soli, kokristala i hidrata (Slika 3.), što uzrokuje probleme u njihovoj podjeli. Polazeći od te činjenice, neki autori smatraju da kokristali trebaju biti povezani sa solima zbog sličnosti u definiranju granica područja prijenosa protona, nekih mjerljivih fizikalnih svojstava u otopini kao što su konstanta topljivosti ( $K_s$ ) i raspon pH vrijednosti pri kojima je kokristal stabilan te definirane stehiometrije.<sup>9</sup> Njihov odnos detaljnije je prikazan u nadolazećem poglavlju.



**Slika 3.** Podjela višekomponentnih kristalnih oblika

### 2.7.1. Kokristali u odnosu na solvate

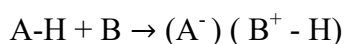
Glavna razlika između solvata i kokristala je fizikalno stanje izolirane čiste komponente: ako je jedna od komponenti u tekućem stanju na sobnoj temperaturi, kristali su određeni kao solvati; ako su obje komponente na sobnoj temperaturi krutine, kristali su tada određeni kao kokristali.

### 2.7.2. Kokristali u odnosu na soli

Ponekad može doći do zabune između definiranja soli i kokristala. Razumijevanje osnovne razlike između formiranja soli i kokristala od velike je važnosti. Soli i kokristali mogu se smatrati suprotnim krajevima višekomponentnih struktura. Soli su često odabrane umjesto slobodne kiseline ili baze jer mogu poboljšati kristalizaciju, topljivost i stabilnost farmaceutskog spoja. Kada soli nemaju primjerena svojstva u čvrstom stanju ili ako ne mogu biti formirane zbog odsutnosti ionskih mjesta API-a, alternativa je formiranje kokristala.

Formacija soli je kiselo-bazna reakcija između djelatne farmaceutske tvari i kisele ili bazne komponente.

Sol se formira transferom protona ( $H^+$ ) od kiseline (A), bazi (B)



Kada do takvog transfera ne dolazi i komponente su prisutne u kristalu kao neutralni entiteti, produkt je obično definiran kao kokristal. Drugim riječima kokristal je A-B mješavina u kojoj ne dolazi do transfera protona. Formiranje soli ili kokristala može se predvidjeti na temelju vrijednosti pKa (konstante disocijacije) kiseline (A) i baze (B). Soli se obično formiraju kada je razlika približno 2.7 pKa jedinica između konjugirane baze i konjugirane kiseline [ $pKa(\text{baze}) - pKa(\text{kiseline}) \geq 2.7$ ].

Primjer: sukcininska kiselina pri pKa 4.2 formira kokristal sa ureom kao bazom (pKa 0.1) dok sa L-lizinom kao bazom (pKa 9.5) formira sol. Obično vrijednosti konstante disocijacije baze nisu dovoljno velike da bi dozvolile transfer protona kad se formira kokristal.<sup>14</sup>

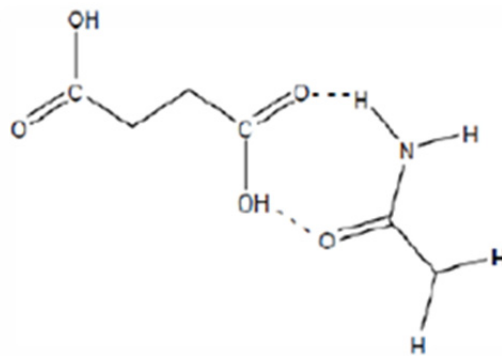
### 2.7.3. Kokristali farmaceutskih djelatnih tvari

Kako je već spomenuto, za većinu farmaceutskih djelatnih tvari postoji više različitih pogodnih i nepodgovnih kristalnih formi koje se mogu dobiti na različite načine. Njih je

potrebno dobro izučiti tijekom postupka razvoja potencijalnog lijeka. Odabir optimalne kristalne forme API-a je važan za procesiranje, primjenu lijeka i pravnu zaštitu (pitanje intelektualnog vlasništva).<sup>9</sup>

Kokristal kao vrstu kristalne forme karakterizira svojstvo njegovih nenabijenih komponenata da zasebno kristaliziraju. To su kristalni kompleksi građeni od API-a, s drugom farmakološki prihvatljivom ili drugim riječima GRAS (*eng. Generally Regarded As Safe*) molekulom. Prihvatljivi kokristalni sučinitelji (koformeri, od *eng. Co-crystal formers (CCF)*) mogu biti primjerice prehrambeni dodaci, konzervansi, vitamini, minerali, aminokiseline, biomolekule ili neke druge farmaceutski djelatne molekule.<sup>11</sup>

Kokristali sa jednakim farmaceutskim sastojcima imati će znatno drugačija svojstva (talište, topljivost, bioraspoloživost, vlažnost, kemijsku stabilnost, itd.), ovisno o prirodi druge komponente. Neki od formiranih kokristala imali su više, a neki niže točke tališta u usporedbi sa čistim komponentama, primjerice sukcininska kiselina ( M.P.135.3), urea ( M.P.188.9) te kokristal sukcininske kiseline i uree.



**Slika 4.** Struktura kokristala sukcininske kiseline i uree

Različita istraživanja kokristala uključuju:

- Formere kokristala za određenu djelatnu tvar,
- Razvoj postupaka za pripremu farmaceutskih kokristala i nanokokristala,
- Kategorizaciju farmaceutskih kokristala,

- Popis farmaceutskih kokristala,
- Polimorfizam kokristala <sup>12</sup>

#### 2.7.4. Načini dobivanja

U zadnjih petnaestak godina primijećen je značajan porast korištenja mehaničko-kemijskih metoda za istraživanje API-a, ali i tehnika koje koriste pare otapala: ubrzano starenje (eng. *Accelerated aging*) i sinteza potpomognuta parama otapala (eng. *Vapour digestion*).<sup>15</sup>

Metode pripreve kokristala:

- Kristalizacijom iz otopine
- Mljevenjem reaktanata u čvrstom stanju
- Kristalizacijom iz taline
- Reakcijskom kristalizacijom
- Kristalizacijom iz suspenzije



**Slika 5.** Formiranje kokristala smještanjem API-ja i kokristalnog formera u istu kristalnu strukturu.

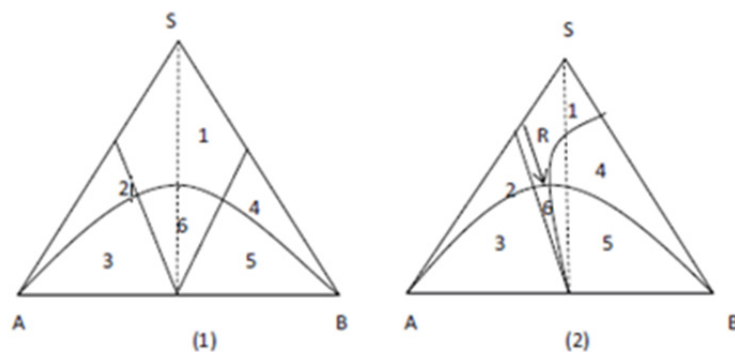
#### Kristalizacijom iz otopine

Jedan od najuobičajenijih načina za dobivanje kokristala je jednostavna kristalizacija API-a iz prezasićene otopine u prisutnosti kokristalnog formera. Uobičajena (u oko 40% slučajeva) prezasićenost je postignuta sporim hlađenjem nezasićene mješavine dok nije postignuta granica topljivosti. Alternativni postupci mogu uključivati sporu difuziju dviju komponenti zajedno kroz difuzijski granični sloj pri konstantnoj temperaturi, iako kokristali veće

topljivosti od čistih čvrstih oblika često ne mogu biti proizvedeni na ovaj način. Ključ za racionalnu sintezu kokristala je razumijevanje binarnog ili ternarnog faznog ravnotežnog dijagrama uključujući otapalo (ako je prisutno) i dvije smjese otopina. Binarni fazni dijagram za dvije kokristalne komponente pokazuje eutektičke točke između svake faze i stoga podrazumijeva postojanje i broj kokristalnih faza. Ternarni fazni dijagram određuje relativna topljivost dviju komponenti.



**Slika 6.** Binarni fazni dijagram



**Slika 7.** Izotermalni ternarni fazni dijagram sa dvije komponente sličnih topljivosti (1) i različitih topljivosti (2)

Područje 1: otopina; 2: A + otapalo; 3: A + kokristal; 4: B + otapalo; 5: B + kokristal; 6: kokristal

## Mljevenjem

Mljevenje potpomognuto malom količinom kapljevine ili mokro mljevenje (eng. *Liquid assisted grinding (LAG)*) i suho mljevenje (eng. *Neat grinding (NG)*) svrstavaju se u mehaničko-kemijske metode koje su se pokazale uspješne u istraživanju novih polimorfa, novih soli i kokristala farmaceutskih djelatnih tvari. Mokro mljevenje je obično bolja tehnika u usporedbi sa suhim mljevenjem jer su sintetizirani produkti veće kristalnosti. Najbolji primjer za to vjerojatno je primjer kafeina i limunske kiseline. Mljevenjem kafeina i limunske kiseline u množinskom omjeru 1:1, uz malu količinu kapljevine nastaje jedan od mogućih kokristalnih produkata, dok suhim mljevenjem ne nastaje očekivani kokristal.<sup>16</sup>

### **Reakcijskom kristalizacijom**

Ukoliko su A i B komponente kokristala različitih topljivosti, kokristalizacija iz otopine može rezultirati formiranjem jednokomponentnog kristala zato što je prezasićenost izazvano obzirom na manje topljiv reaktant ili obzirom na oboje. Postoji rizik kristaliziranja samog reaktanta ili mješavine reaktanta i kokristala. Upravo se stoga razvila reakcijska kristalizacija. Pokusi RK-e izvedeni su dodavanjem reaktanta B zasićenoj ili skoro zasićenoj otopini reaktanta A te tada otopina postaje prezasićena obzirom na kokristal AB, dok kokristalizacija nastavlja dalje putem R, kao što je to prikazano na slici 5. 2). Ova metoda efikasnija je sa različitim koncentracijama otopina i kada su otopine zasićene obzirom na reaktante. U jednoj studiji (Childs et. al., 2008.) izvedeni su eksperimenti reakcijske kristalografije, dodavanjem karbamazepina zasićenoj ili skoro zasićenoj otopini od 18 koformera odvojeno, te je dobiveno nekoliko čistih kokristala karbamazepina.<sup>11</sup>

### **2.7.5. Fizikalno-kemijska svojstva**

Iako soli povećavaju bioraspoloživost API-a, više od 30% farmaceutskih komponenata nema optimalne funkcionalne skupine potrebne za nastajanje soli. S termodinamičkog gledišta, kokristali API-a su stabilni i visokoenergetski sustavi. Zbog toga, priprava kokristala može potencijalno poboljšati topljivost, brzinu otapanja, stabilnost i higroskopnost API-a.<sup>17</sup>

Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava (kao što su mjera kristalnosti, talište, topljivost, konstanta stabilnosti u otopini i sl.) bitno je u ranijoj fazi istraživanja novih formi kokristala. Informacije dobivene ispitivanjem tih svojstava mogu biti upotrijebljene za odabir povoljnih formi kokristala, koji su dobri kandidati za lijek<sup>18</sup>

## **Talište kokristala**

Točka tališta je temperatura pri kojoj su čvrsta i tekuća faza u ravnoteži. To je temeljno fizikalno svojstvo i važno ga je razmatrati tijekom razvoja krutih lijekova. Postoje složene korelacije između točke topljivosti farmaceutskog proizvoda i njegove obradivosti, topljivosti i stabilnosti. Provedena su mnoga istraživanja kako bi se utvrdilo da li se točka tališta mijenja u odnosu na pojedine komponente i je li moguće procijeniti i podesiti talište unutar serije kokristala. Aakeroy i suradnici (2009) pretpostavili su da točka tališta i topljivost u vodi API-ja mogu biti pažljivo podešeni kokristalizacijom API-ja s nizom koformera koji imaju sličnu strukturu, ali pokazuju različite točke tališta. Ova pretpostavka dokazana je kristalizacijom heksametilenbisetamida, antitumorskog lijeka i pet različitih, istobrojnih alifatskih dikarboksilnih kiselina u kojima je ostvaren niz kokristala željene strukturne konzistencije, ukazujući na to da su točke tališta ovih pet kokristala direktno povezane s talištima dikarboksilne kiseline. Iz ovih rezultata može se zaključiti da bi kokristalimogli ponuditi jedinstvene mogućnosti za razvoj novih čvrstih oblika lijekova čija se fizikalno kemijska svojstva mogu podesiti na željen i predvidljiv način. Međutim, dobiveni rezultati temelje se na malom broju uzoraka te je potrebno daljnje istraživanje unutar ovog područja.<sup>19</sup>

## **Stabilnost kokristala**

Tijekom ispitivanja stabilnosti kokristala moraju se ispitati sve moguće vrste stabilnosti ovisno o njegovoj molekularnoj strukturi i svojstvima. Prikupljanje podataka o kemijskoj i fizičkoj stabilnosti odvija se pri tzv. "uvjetima ubrzane provjere stabilnosti" kako bi se odredilo vrijeme raspada kokristala i rok trajanja. Kod takvog procesa bitnu ulogu ima količina vode koja sudjeluje ili se apsorbira tijekom raspada. Određena količina vode prisutna u kokristalu može dovesti do promjene forme, razlaganja ili drugih posljedica. Također, bitnu ulogu u ispitivanju stabilnosti kokristala imaju otpornost na temperaturne promjene i stabilnost u otopini.<sup>20</sup>

## **Topljivost kokristala**

Topljivost je još jedan važan parametar za procjenu svojstva farmaceutskog kokristala. Tradicionalne metode za poboljšanje topljivosti lijekova slabo topljivih u vodi uključuju formiranje soli, čvrstu disperziju (emulziju) i redukciju veličine čestica (mikronizacija). Povećanje topljivosti slabo topljivih komponenti lijekova jedan je od glavnih razloga za



istraživanje kokristala. Veća topljivost je poželjna u probavnom sustavu jer duže vrijeme otapanja rezultira slabijom apsorpcijom lijeka. Vrijeme potrebno za postizanje ravnotežne topljivosti također je ključan faktor u razvoju potencijalne kokristalne forme lijeka s obzirom na vremenski period u kojem je lijek prisutan u želudcu i crijevima.

Postoji mnogo istraživanja koja se bave ispitivanjem topljivosti kokristala u različitim medijima kao što su voda, fosfatni pufer, simulirana želučana kiselina i simulirane crijevne tekućine. U većini istraživanja ispituje se topljivost praha kroz određeni period. Veličina čestica je u nekim slučajevima kontrolirana, a u nekima nije, dok su u mnogim istraživanjima korištene različite veličine čestica kako bi se mogli međusobno usporediti.

### **Intrizično otapanje**

Intrizično otapanje mjeri brzinu otapanja čiste komponente lijeka bez utjecaja veličine čestica i mjeri intrinzična svojstva lijeka kao funkcije svojstava medija za otapanje npr. pH, ionska jakost i protuioni. Uzorak koji se koristi u intrizičkom testu otapanja je prešan u disk ili pelet, pri tome ne bi smjelo doći do nikakve promjene prilikom prešanja. i disk i pelet moraju zadržati oblik tijekom eksperimenta. Većina API-a proučenih za kristalizaciju spadaju u BCS II (eng. *Biopharmaceutics Classification System*) lijekove, koji imaju visoku propusnost i nisku topljivost.

**Tablica 1.** BCS klasifikacija

| BCS razred | Topljivost | Propusnost | % lijekova na tržištu | % lijekova u razvoju |
|------------|------------|------------|-----------------------|----------------------|
| I          | Visoka     | visoka     | 35                    | 5-10                 |
| II         | niska      | visoka     | 30                    | 60-70                |
| III        | visoka     | niska      | 25                    | 5-10                 |
| IV         | niska      | niska      | 10                    | 10-20                |

Lijekovi imaju hidrofobni dio koji je lipofilan i daje propusnost za lijek koji se vezuje na receptor i hidrofilni dio molekule-vodikove veze koji daje topljivost. Potrebna je ravnoteža i jednog i drugog dijela kako bi dobili idealnu molekulu lijeka, nažalost ti su spojevi malobrojni.

## **Bioraspoloživost kokristala**

Bioraspoloživost jest brzina i stupanj apsorpcije ljekovite tvari iz farmaceutskog oblika definirana krivuljom odnosa koncentracije i vremena u sistemsnoj cirkulaciji ili izlučivanjem u urinu. ("Narodne novine" broj 124/97,Pravilnik o ispitivanju bioraspoloživosti i bioekvivalenciji lijekova)

Krajnji cilj istraživanja kokristalizacije je poboljšavanje bioraspoloživosti API-a. Bioraspoloživost u životinja važan je parametar koji se uzima u obzir kod pripreme novih oblika spojeva. Postoji ograničen broj studija utjecaja kokristala na bioraspoloživost kod životinja. Kokristal glutarne kiseline i 2-[4-(4-klor-2-fluorfenoksi)fenil]pirimidin-4-karboksamida korišten je za demonstraciju poboljšanja oralne bioraspoloživosti API-a kod pasa.<sup>21</sup>

Istraživanja su potvrdila da je kod pasa izloženih jednoj dozi kokristala došlo do povećanja AUC(eng. *Area under the plasma concentration time curve*) (područje ispod krivulje koncentracije plazme u vremenu) za tri puta na dvije različite razine doze. Druga farmaceutskokinetička istraživanja na indometacin saharin kokristalu također su pokazala poboljšanje bioraspoloživosti kokristala u odnosu na čisti API,indometacin.<sup>22</sup>

### 3. PRIMJERI IZ LITERATURE

U posljednja dva desetljeća povećala su se istraživanjima na području kokristalizacije što je rezultiralo boljem shvaćanju ove pojave ali i povećanju intelektualnog vlasništva u tom područje te konačno razvoju u regulatornom sustavu. Farmaceutski kristali su dobili su na značaju kao novi čvrsti oblik zbog njihove sposobnosti da moduliraju slabe fizičko-kemijske osobine molekula lijeka. Međutim, farmaceutski razvoj kokristala je vrlo zahtjevan proces što onda ograničava njihovu primjenu u farmaceutskoj industriji.

Pregledom literature, utvrđeno je da su tablete koje sadrže djelatnu tvar escitalopram oksalat bili prvi lijekovi na tržištu koji sadrže kokristal. Ova djelatna tvar primila je 2002. godine od FDA dozvolu za primjenu. U to vrijeme nije bilo poznato da se radi o kokristalnom obliku djelatne tvari koji se sastoji od escitalopram oksalata i oksalne kiseline. U međuvremenu FDA i EMA (*European Medicines Agency*) predstavile su raspravnu dokumentaciju o načinu klasifikacije novih kokristala koji su ušli u klinička ispitivanja. Ova dokumentacija služila je samo kao privremena smjernica, a s vremenom se definiraju stavovi, pa tako EMA predlaže da se kokristalima pristupa na sličan način kao polimorfima i solima, dok FDA smatra kokristale kao međuprodukte lijekova.

U međuvremenu, su u poljoprivrednoj industriji pokazali kako je moguće uspješno proizvest i lansirati na tržište nove formulacije proizvoda. Naime, Faban® je nova inovativna formulacija koja sadrži kokristal od dva fungicida Pirimetanila i Ditanona. Kokristal smanjuje nestabilnost Pirimetanila i rezultira boljom kontrolom bolesti. U slijedećem dijelu dani su neki primjeri iz literature koji govore o načinu dobivanja i poboljšanim svojstvima aktivne tvari primjenom kokristala.<sup>23</sup>

#### 3.1. Rosuvastatin

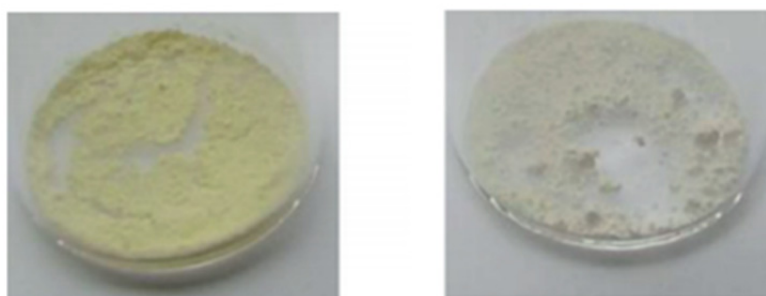
Osjetljivost na svjetlo je problem za aktivnu tvar kao i za sami lijek, budući da svjetlost treba kontrolirati ili isključiti tijekom sinteze lijeka, skladištenja, formulacije i konačno pakiranja. Postizanje manje osjetljivosti na svjetlo djelatne tvari, može dovesti do lakše formulacije i pakiranja uz istovremeno zadržavanje ili čak poboljšavanje roka trajanja proizvoda.

Rosuvastatin se koristi kao lijek za snižavanje lipida. On inhibira koenzim HMGCR (3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A reduktaza) koji u organizmu kontrolira metabolički put koji proizvodi kolesterol i druge izoprenoide, a formuliran je kao amorfnu sol hemikalcija. Ova amorfnu sol je osjetljiva na svjetlost. Prijavljeno je nekoliko kristalnih oblika

Rosuvastatina (tablica 2). Jedan od njih je vanilin kokristal rosuvastatin hemikalcija povećava osjetljivost na svjetlost. Izvanredno poboljšanje u pogledu degradacije može se otkriti pomoću kapljevinska kromatografije visoke učinkovitosti (HPLC metoda) te vizualno (slika 9).<sup>24</sup>

**Tablica 2:** Čistoća određena HPLC metodom za različita čvrsta stanja rosuvastatina

| Čvrsto stanje Rosuvastatin hemikalcij soli | HPLC čistoća nakon 0 dana, % | HPLC čistoća nakon 15 dana, % | razlika nakon 15 dana |
|--|------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Amorfni ( uzorak 1 )                       | 98,43                        | 69,88                         | -28,55                |
| Amorf ( uzorak 2 )                         | 99,65                        | 86,50                         | -13,15                |
| Kristal, oblik A                           | 99,64                        | 94,15                         | -5,49                 |
| Kokristal sa vanilinom 1:0,5               | 98,90*                       | 97,33                         | -1,57*                |

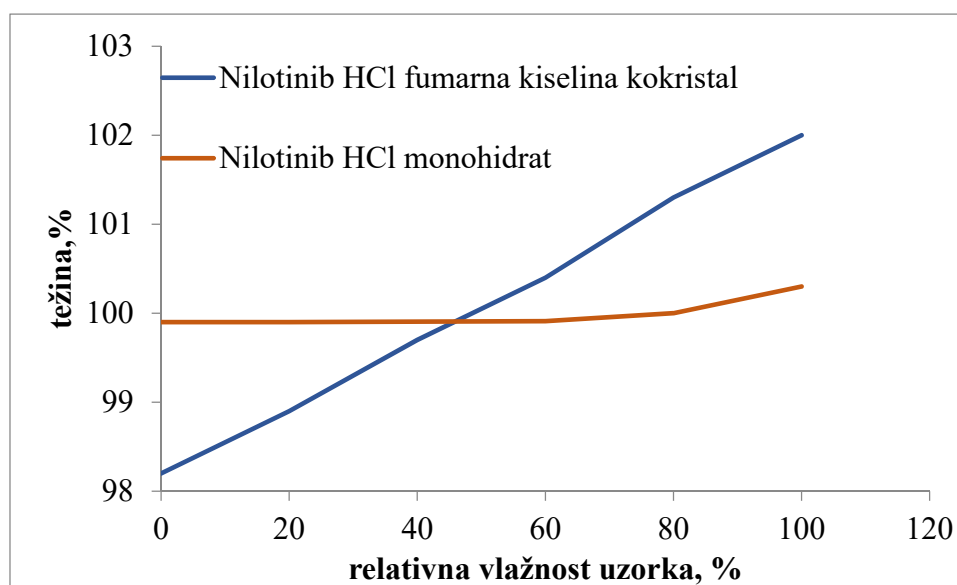


**Slika 8.** Amorfna Rosuvastatin hemikalcij sol (lijevo) i kokristal Rosuvastatin hemikalcij soli vanilina (desno), nakon 15 dana izlaganja sunčevoj svjetlost

### 3.2. Nilotinib hidroklorid

Higroskopnost je svojstvo tvari da upija vodu iz okoline. Djelatne tvari kod koji su higroskopni moraju biti pažljivo tretirani obzirom na kontrolu klime tijekom proizvodnje i pakiranja. Nilotinib je inhibitor tirozin kinaze. Koristi se u liječenju kronične mijelogene leukemije. Lijek je formulacija nilotinib hidroklorid monohidrata. Nilotinib hidroklorid postoji u nekoliko različitih čvrstih oblika. Odabrani monohidrat API soli je slabo higroskopan. Higroskopnost se može dodatno smanjiti stvaranjem kokristala s fumarnom kiselinom. Nastaje kokristalna struktura gdje je nilotinib protoniran, a fumarna kiselina neutralna. Na temelju klasifikacije obzirom na higroskopnost, hidrokloridna sol je slabo

higroskopna dok kokristal soli nije higroskopan (slika 9.). Smanjena higroskopnost pojednostavljuje postupanje s lijekovima tijekom proizvodnje i skladištenja; rok trajanja može se povećati i smanjiti troškovi pakiranja.<sup>24</sup>



**Slika 9.** Usporedba higroskopnosti Nilotinib HCl monohidrata i kokristala.

### 3.3. Farmaceutski kokristali fluoksetin hidroklorida (Prozac®)

Dostupnost i tržišna raspoloživost raznih API-ja kao kloridnih soli dobro je prepoznata, a nedavno je zabilježen pristup korištenju takvih kloridnih soli, posebno fluoksetin hidroklorida (fluoksetin HCl), kako bi se stvorili kokristali soli amin hidroklorida posredstvom klorida za sintezu karboksilne kiseline. Fluoksetin HCl je farmaceutski djelatni sastojak koji se nalazi u uobičajenom antidepresivnom lijeku Prozac®. U čvrstom stanju pri sobnim uvjetima, poznata je samo jedna kristalna faza, a dostupna je u obliku soli. Pokazano je da kokristalizacija ovog API-ja modificira fizikalna svojstva fluoksetina HCl iako zadržava formu hidrokloridne soli API-ja. Fluoksetin HCl je kokristaliziran s benzojevom kiselinom (omjer 1:1), succinskom kiselinom (2: 1) i fumarnom kiselinom (2: 1) putem tradicionalnih tehnika isparavanja. Za sva tri kokristala, utvrđeno je da karboksilna kiselina tvori vodikovu vezu sa kloridnim ionom, koji je zauzvrat stupio u interakciju s protoniranim aminom, stvarajući time, u sva tri slučaja, amin hidroklorid vodikovu vezu na dodatnu neutralnu molekulu. Eksperimenti za otapanje praška provedeni su u vodi za tri nova kokristala što je rezultiralo poboljšanjem profila otapanja. Utvrđeno je da kokristal fluoksetin HCl: benzojeve kiseline ima smanjenje

topljivosti u vodi za 50%, a kokristal fluoksetin HCl: fumarne kiseline ima tek neznatno povećanje topljivosti u vodi. Međutim, kokristal fluoksetin HCl: sukciinske kiseline pokazao je približno dvostruko povećanje topljivosti u vodi nakon samo 5 minuta. Kompleks koji nastaje između sukciinske kiseline i fluoksetina HCl se raspada u otopini kako bi se dobile čiste komponente nakon oko 1 sata. Ono što je interesantno u ovoj studiji je da se jednostavnim vodikovim vezama hidrokloridne soli API-ja sa sličnim formerima kokristala mogu stvoriti izrazito različiti profili otapanja.<sup>25</sup>

### **3.4. Kokristal melamina i cijanurne kiseline**

Početkom 2007. FDA je zaprimila više od 4000 pritužaba vlasnika kućnih ljubimaca koje su se odnosile na smrt životinja nakon uzimanja hrane koja je kasnije povučena. Izviješteno je kako je većina tih smrtonosnih incidenata uzrokovana akutnim zatajenjem bubrega. U početku je melamin, koji je zapažen u zaraženim proizvodima, bio osumnjičeni kontaminant, budući da se ta posebna kemikalija može namjerno dodati kako bi se povećao prividni sadržaj proteina hrane. Međutim, melamin se smatra relativno netoksičan, (kod štakora je zabilježena oralna letalna doza 50 (LD<sub>50</sub>) od 3100 mg/kg za muškarca i 3900 mg/kg za ženu. Količina melamina promatrana u tim incidentima nije bila na razinama koje bi u normalnim slučajevima bile smrtonosne. Tijekom ispitivanja hrane za životinje, cijanurinska kiselina, drugi relativno netoksični spoj, također je identificiran u hrani za kućne ljubimce kao kontaminant. Iako su melamin i cijanurinska kiselina relativno sigurni pojedinačno, u literaturi nije bilo podataka koji bi mogli utvrditi moguću toksičnost njihove kombinacije.

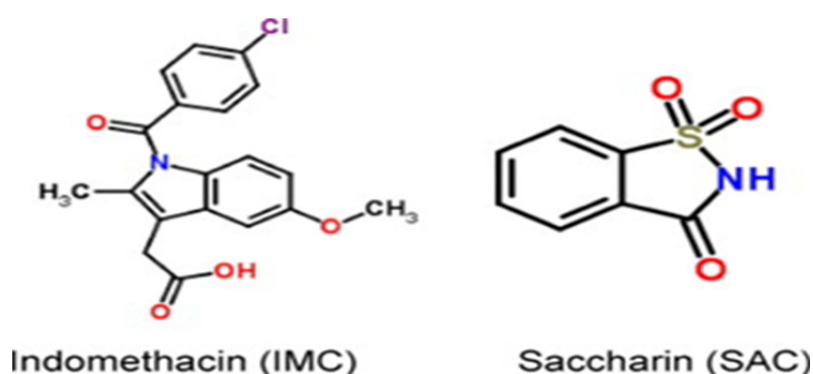
Međutim, utvrđeno je da njihovom kombinacijom nastaje kokristal melamin-cijanurne kiseline koji je izrazito netopljiv u vodi. Kombinacija melamina i cijanurne kiseline može rezultirati intra-tubularnim taloženjem melamin-cijanurinske kiseline u bubregu. Mehanizam povezan s oštećenjem bubrega još nije potpuno shvaćen. Istraživanje koje je provedeno na *Bergh Memorial Animal Hospital* u New Yorku otkrilo je da su nastali kokristali blokirali putove koji su vodili iz bubrega u mjehur mačaka, a toksikološka procjena melamina i cijanurne kiseline pokazala je da jedno oralno izlaganje mačaka kokristalu melamin-cijanurne kiseline pri koncentraciji od 32 mg/kg tjelesne težine može dovesti do akutnog zatajenja bubrega. Čini se jasnim da je nastanak nisko topljivog kokristala melamina i cijanurne kiseline odgovoran za ove incidente. Možda je ova studija slučaja melamina:cijanurne kiseline

prvi primjer koji pokazuje kako kokristali mogu značajno mijenjati relevantna fizička svojstva na negativan način.<sup>25</sup>

### 3.5. Kokristal indometacina

Indometacin je nesteroidni protuupalni analgetik (NSAID) u širokoj je upotrebi za liječenje artritisa. Indometacin je praktički netopljiv u vodi (2,5-4 µg/ml, pripada BCS klasi II) što predstavlja izazov u razvoju njegove formulacije za primjenu. Različiti kristalni pripravnici, uključujući saharin, korišteni su pri pretraživanju kokristala indometacina.

Struktura indometacin saharinskog kokristala (*IND-SAC cocrystal*) određena je iz podataka difrakcije X-zračenja jednog kristala. Procjenjuju se farmaceutski relevantna svojstva kao što su brzina otapanja i dinamička sorpcija para (eng. *dynamic vapour sorption DVS*) IND-SAC-kokristala.



*Slika 10.* Indometacin i saharin

IND-SAC kokristali dobiveni su iz etil acetata. Fizikalna karakterizacija pokazala je da je IND-SAC kokristal jedinstven u odnosu na toplinske, spektroskopske i rendgenske difrakcijske značajke. Brzina otapanja IND-SAC bila je znatno brža od stabilnog indometacina  $\alpha$  oblika. DVS studije pokazuju da su kokristali dobili manje od 0,05% težine na 98% relativne vlažnosti.

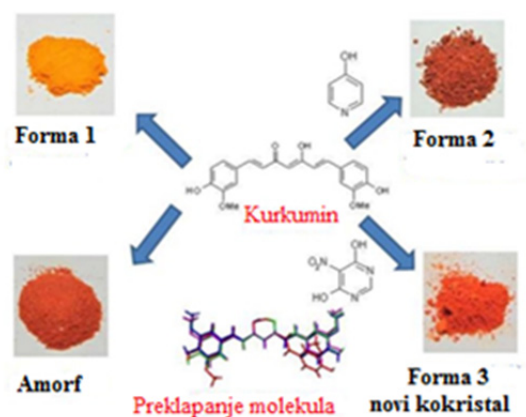
IND-SAC-kokristal je formiran s jedinstvenim i zanimljivim karbonskim i imidnim dimernim sintonima povezanim slabim N-H ... O vodikovim vezama. Kokristali su karakterizirani znatno bržom brzinom otapanja od indometacina (a-oblik) u fosfatnom puferu pH 7.4 i bili su nehigroskopni <sup>25</sup>

### 3.6.Kurkumin

Kurkumin je aktivni sastojak kurkume, korjenaste biljke iz porodice đumbira koja se od davnina cijeni zbog blagotvornih nutritivnih svojstava. Kurkuma sadrži 2-5% kurkumina koji se postupkom ekstrakcije izdvaja i na taj se način dobiva ekstrakt koji uobičajeno sadrži 95% kurkumina. Provedeno je i objavljeno preko 5000 studija o njegovim ljekovitim svojstvima te u usporedbi sa konvenkcionalnim lijekovima nema štetnih nuspojava.

Unatoč brojnim dokazanim ljekovitim svojstvima, nije deklariran kao lijek zbog vrlo male topljivosti (8mg/L) i vrlo niske bioraspoloživosti (0,051 µg/ mL) te zbog brzog metabolizma u jetri i crijevnom zidu (poluvrijeme eliminacije < 2h).

Cilj istraživanja bio je pokušati poboljšati bioraspoloživost i topljivost molekule kurkumina. Na početku istraživanja pronađena su, uz jednu već otprije poznatu i deklariranu kristalnu strukturu, još dva nova polimorfa. Polimorfi poboljšavaju topljivost i bioraspoloživost no glavni izazov kod polimorfa je metastabilni polimorf koji ima obično najvišu topljivost, ali se vremenom može transformirati u onaj stabilniji. Pokazalo se da unutar nekoliko sati forma 2 i 3 prelaze u formu 1 (slika 11.) te zapravo nema neke prednosti osim činjenice da ta dva polimorfa postoje. Ti polimorfi imaju ograničenu stabilnost u praktičnom smislu te se stoga istraživanje usmjerilo na kokristale.<sup>26</sup>

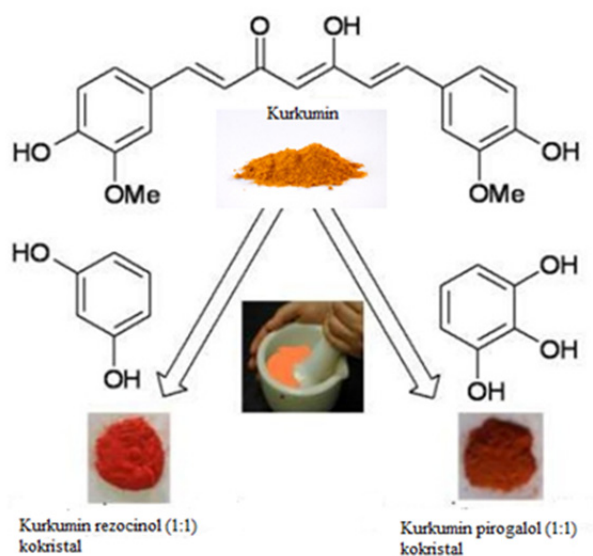




*Slika 11.* Čvrsti oblici kurkume<sup>27</sup>

Pitanje koje se postavlja je **"Može li se napraviti stabilna, topljiva molekula kurkumina za oralnu upotrebu u obliku kokristala?"**

Prema rezultatima istraživanja iz 2015. godine uspješno su sintetizirani kokristali kurkumina sa rezorcinolom i pirogalolom kao koformerima, metodom mljevenja uz malu količinu kapljevine. Kokristali kurkumin-rezorcinola i kurkumin-pirogalola dobiveni su u stehiometrijskom omjeru 1:1 te je provedena karakterizacija difrakcijom rendgenskih zraka na kristalu, Ramanova spektroskopija, IR, nuklearna magnetska rezonancija čvrstog stanja te DSC. Točka tališta dobivenih kokristala između je točke tališta kurkumina i koformera, kokristal kurkumin-pirogalola topljiviji je 14 puta, dok je kokristal kurkumin-rezorcinola topljiviji 6 puta u odnosu na čiste supstancije. Oba kokristala stabilnija su četrdeset puta od čistog kurkumina što je dobro, ali ne dovoljno da bi došlo do njihove primjene i proizvodnje u dugoročnom smislu. Još uvijek traju istraživanja kako bi se pronašli bolji i odgovarajući koformeri.<sup>26,28</sup>



*Slika 12.* Kokristal kurkumina sa rezorcinolom i pirogalolom<sup>27</sup>

## 4. ZAKLJUČAK

Pravi je izazov današnjice pronaći nove lijekove bolje učinkovitosti. Usprkos značajnim uspjesima u otkrivanju novih lijekova, još uvijek postoje medicinska stanja koja trebaju odgovarajuću terapiju. Tržišni potencijal i konkurencija među tvrtkama ubrzali su proces otkrića i razvoja lijekova. Rezultat "farmaceutske groznice" jesu slaba biokemijska svojstva velikog broja lijekova. Procjenjuje se da se oko 40% odobrenih lijekova i skoro 90 % lijekova u razvoju sastoji od slabo topljivih molekula. Modifikacija i poboljšavanje formulacija postojećih lijekova danas postaje glavni izazov kojim se bavi farmaceutska industrija.

Dobivanje farmaceutskih kokristala te njihova uspješna proizvodnja i primjena ne predstavljaju više samo alternativnu metodu za poboljšanje fizikalno-kemijskih svojstava i veće bioraspoloživosti lijekova, nego sve više postaju nužnost u borbi za opstanak na zahtjevnom farmaceutskom tržištu.

## 5. LITERATURA:

1. Tan, D., Loots, L., Friščić, T., Chem. Commun. 52 (50), (2016), 1-23.
2. Sander, A., Jedinične operacije u ekoinženjerstvu, interna skripta, 2011.
3. Myerson, A. S., Handbook of Industrial Crystallization, Butterworth-Heinemann, Boston, 2002.
4. Harrison, Todd, Rudge, Petrides, Bioseparations science and engineering, Oxford, (2003), 31-32, 272-277.
5. Vedantam, S., Ranade, V.V., Crystallization: Key thermodynamic, kinetic and hydrodynamic aspects, Sadhana, (2013), 38 (6), 1287-1337.
6. Žegerac, M., Pretraživanje i karakterizacija čvrstih formi modelnih supstancija i odabраних лјековитих твари, mogućnosti i ograničenja, Doktorski rad, FKIT, Zagreb (2014), 4-17.
7. Jenkins, E.W., The Polymorphism of Elements and Compounds, Methuen Educational Ltd, London, 1973.
8. Trask, A.V., Motherwell, W.D.S., Jones, W., Int. J. Pharm., 320 (2006), 112-123.
9. Aitipamula, S. et al., Cryst. Growth Des., 12 (2012), 2147–2152.
10. Jayasankar, A., Somwangthanaroj, A., Shao, Z.J., Rodriguez-Hornedo, N., Pharm. Res. 23 (2006), 2381-2392.
11. Chen, J., Sarma, B., Evans, J. M. B., Myerson, A. S., Cryst. Growth Des., 11 (2011), 887–895.
12. Sekhon B.S., Pharmaceutical co-crystals-a review, Ars. Pharm., 50 (2009), 3; 99-117
13. Whitesides, G. M., Wong, A. P., The intersection of biology and materials science, 31 (2006), 19-27.
14. Xiaozhi, L., Nature, 524 (2015) 20-21.
15. James, S. L., Adams, C. J., Bolm, C. et al., Chem. Soc. Rev. 41 (2012) 413-447.
16. Qiao, N., Schlindwein, W., Nazneen, M., Davies, A., Trappitt G., Int. J of Pharma., 419 (2011), 1-11.
17. Schultheiss, N., Newman, A., Cryst. Growth Des. 9 (2009) 2950–2967.
18. Qiao, N., et al. / International Journal of Pharmaceutics 419 (2011) 1– 11.
19. McNamara, D.P., et al., Pharm. Res., 23 (8) (2006), 1888-1897.
20. Jung, M. S., et al., J. Pharm. Pharmacol., 62 (11) (2010), 1560-1568.
21. Childs S. L., Am Chem Soc., 126 (2004), 35-42.

22. Puschner B., Vet Diag Invest., 19 (2007), 616-624.
23. Basavoju S., Bostrom D., Velaga S. P., Pharm. Res., 25 (3) (2008), 530-541.
24. Viertelhaus M., Hafner A., Chemistry Today, 33 (5) 2015.,23-26.
25. Yadav, A. V., Shete, A. S., Dabke, A. P. et al., Indian J Pharm Sci., 71 (4) (2009), 359–370.
26. Video lecture, Professor Ashwini Nangia, Chemistry Department, University of Hyderabad, India, 2015.  
URL: [https://www.youtube.com/watch?v=qVDEWM4Z5\\_s&t=229s](https://www.youtube.com/watch?v=qVDEWM4Z5_s&t=229s)
27. Sanphui P., Goud N. R., Khandavilli U. B. R., Nangia A., Cryst.Growth Des., 11 (5)(2011),4135 -4145.
28. Chadha, R., et al., Recrystallization in Materials Processing, poglavlje 5 Cocrystallization in Nutraceuticals by Chadha R., Bhalla Y., Vashisht M.K., Chadha K., 2015.,