

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MATEJA ČURIČ

Diplomska naloga

**POSKUS IZDELAVE KOKRISTALOV KARVEDILOLA Z
AMINOKISLINAMI**

Univerzitetni študij farmacije

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MATEJA ČURIČ

Diplomska naloga

**POSKUS IZDELAVE KOKRISTALOV KARVEDILOLA Z
AMINOKISLINAMI**

**AN ATTEMPT TO PREPARE COCRYSTALS OF CARVEDILOL
WITH AMINOACIDS**

Ljubljana, 2011

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, pod mentorstvomizr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm. Meritve rentgenske praškovne difrakcije so opravili na Oddelku za strukturne raziskave podjetja Krka, d.d., Novo mesto.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju,izr. prof. dr. Odonu Planinšku, za posredovanje strokovnega znanja, usmerjanje pri eksperimentalnem delu ter pomoč in nasvete pri pisanju diplomske naloge.

Prav tako se zahvaljujem Borutu Kovačiču, mag. farm. za pomoč pri eksperimentalnem delu in številne koristne nasvete ter Matjažu Pajku, dipl. inž. kem. teh., za izvedbo analiz rentgenske praškovne difrakcije.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvomizr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm..

Mateja Čurič

Ljubljana, september 2011

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Slavko Pečar

Član diplomske komisije: doc. dr. Simon Žakelj

VSEBINA

POVZETEK.....	I
ABSTRACT	II
SEZNAM OKRAJŠAV	IV
1 UVOD.....	1
1.1 KOKRISTALI	1
1.1.1 FARMACEVTSKI KOKRISTALI	3
1.1.2 MEDMOLEKULSKE POVEZAVE V KOKRISTALIH	3
1.1.3 LASTNOSTI IN UPORABNOST FARMACEVTSKIH KOKRISTALOV ..	4
1.1.4 POLIMORFIZEM PRI KOKRISTALIH	8
1.2 NAČRTOVANJE KOKRISTALOV.....	9
1.3 METODE IZDELAVE KOKRISTALOV	10
1.3.1 KOKRISTALIZACIJA IZ RAZTOPIN	11
1.3.2 PRIDOBIVANJE KOKRISTALOV Z MLETJEM	13
1.3.3 MLETJE BREZ TOPILA	13
1.3.4 MLETJE Z DODATKOM TOPILA	15
1.3.5 OSTALE METODE PRIPRAVE KOKRISTALOV	17
1.4 METODE KARAKTERIZACIJE KOKRISTALOV	17
1.5 AMINOKISLINE IN PEPTIDI V KOKRISTALIH	19
1.5.1 AMINOKISLINE KOT GRADNIKI KOKRISTALOV	19
1.5.2 DI- IN TRIPEPTIDI KOT GRADNIKI KOKRISTALOV.....	22
1.6 PREGLED PATENTNE ZAŠČITE UČINKOVIN V OBLIKI KOKRISTALOV	25
1.7 KARVEDILOL	26
1.7.1 DELOVANJE IN UPORABA.....	26
1.7.2 OSNOVNI PODATKI.....	26
1.7.3 POLIMORFNE MODIFIKACIJE KARVEDILOLA	27
2 NAMEN DELA	29
3 MATERIALI IN METODE	30
3.1 MATERIALI	30
3.2 METODE.....	32
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	34
4.1 OCENA TOPNOSTI AMINOKISLIN V TOPILIH ZA MLETJE.....	34

4.2	MLETJE KARVEDILOLA S POTENCIALNIMI TVORCI KOKRISTALOV	34
4.3	PREGLED REZULTATOV OPRAVLJENEGA REŠETANJA Z METODAMA DSC IN XRPD	35
4.4	MLETJE KARVEDILOLA Z AMINOKISLINAMI KOT POTENCIALNIMI TVORCI KOKRISTALOV	36
4.4.1	AMINOKISLINE, PRI KATERIH NI PRIŠLO DO INTERAKCIJ	36
	▪ PROLIN	37
	▪ GLUTAMINSKA KISLINA	38
4.4.2	AMINOKISLINE, KI SO POVZROČILE SPREMEMBO KRISTALNE STRUKTURE KARVEDILOLA	39
4.4.2.1	Aminokisline, ki so povzročile popoln prehod v drugo kristalno obliko karvedilola	39
	• Popoln prehod v obliko I	39
	▪ CISTIN	39
	▪ TIROZIN	42
	▪ SERIN	44
4.4.2.2	Aminokisline, ki so povzročile prehod v zmes dveh oblik karvedilola ..	45
	• Prehod v zmes oblik II in I	45
	▪ ARGININ	46
	▪ ASPARAGIN, ALANIN, FENILALANIN IN TREONIN	48
	• Prehod v zmes oblik I in III	53
	▪ VALIN	53
4.5	MLETJE KARVEDILOLA S TOPILI BREZ DODATKA AMINOKISLIN	55
5	SKLEP	56
6	LITERATURA	58
	PRILOGA	65

POVZETEK

Farmakokinetične lastnosti zdravilne učinkovine so odvisne od njenih fizikalno-kemijskih lastnosti. Pri razvoju formulacij lahko te lastnosti spreminjamo s tvorbo soli, hidratov/solvatov, različnih polimorfnih oblik in tvorbo amorfne oblike. V zadnjih letih se je kot dodatna možnost za spreminjanje pomembnih farmacevtskih lastnosti uveljavila tvorba kokristalov. S kokristalizacijo lahko spremenimo naslednje lastnosti zdravilne učinkovine: temperaturo tališča, topnost, hitrost raztapljanja in z njo povezano biološko uporabnost, higroskopskost, kemijsko stabilnost, mehanske lastnosti in posledično tudi farmakološke lastnosti. Farmacevtski kokristali so sestavljeni iz zdravilne učinkovine in tvorca kokristala in lahko izpolnjujejo tudi pogoje patentne zaščite. Kljub relativno novemu področju v farmacevtski industriji je patentiranih veliko kokristalov. Naredili smo pregled podeljenih patentov in vloženih patentnih prijav, ki se nahaja v Prilogi in ugotovili, da je takšnih prijav čez 200.

Kokristale lahko pripravimo na različne načine, najbolj uveljavljeni metodi sta kokristalizacija iz raztopine in priprava z mletjem sestavin v krogličnem mlinu. Nedavne modifikacije postopka mletja, kjer dodamo majhne količine topila, izboljšajo proces kokristalizacije v trdnem.

V sklopu diplomske naloge smo z mletjem z dodatkom topila poskusili pripraviti kokristale karvedilola (kristalna oblika II). Kot tvorce kokristalov smo uporabili 11 različnih aminokislin, ki smo jim predhodno tudi ocenili topnost v pri mletju uporabljenih topilih.

V primeru uporabe nekaterih aminokislin kot potencialnih tvorcev kokristalov smo z diferenčno dinamično kalorimetrijo opazili različne spremembe tališča, nadaljnja XRPD pa je pokazala, da je prišlo do različnih pretvorb polimorfnih modifikacij karvedilola. Nekateri aminokislinski so povzročile prehod karvedilola oblike II v zmes oblik I in II (aminokislina arginin, asparagin, alanin, fenilalanin in treonin) ali v zmes oblik I in III (aminokislina valin). Nekateri aminokislinski (cistin, tirozin in serin) so povzročile popoln prehod v obliko I.

V primeru mletja karvedilola s topili brez aminokislin je v primeru uporabe etanola ali tetrahidrofurana prišlo do prehoda karvedilola (kristalna oblika II) v zmes oblik I in II. Mletje samega karvedilola z vodo ali acetonom ni spremenilo kristalne strukture karvedilola. Kokristalov karvedilola z izbranimi aminokislinskimi nismo uspeli izdelati.

ABSTRACT

The pharmacokinetic properties of active pharmaceutical ingredients (API) are dependent on their physicochemical properties. In the development of formulations, one can change these properties by the formation of salts, hydrates/solvates, diverse polymorphic forms and the formation of amorphous forms. In recent years, the formation of co-crystals has gained importance as an additional option to change important pharmaceutical properties. By co-crystallisation, we can change the following properties of therapeutic ingredients: melting point, solubility, dissolution rates and its connected bioavailability, hygroscopicity, chemical stability, mechanical properties and, consequently, also pharmacological properties. Pharmaceutical co-crystals are composed of API and co-crystal formers and they might also satisfy the conditions of patent protection. Despite the relative novelty of the field in the pharmaceutical industry, a good number of co-crystals have already been patented. We performed a survey of patents granted and submitted patent applications. We found that there are over two hundred such applications. This can be found in the appendix.

Co-crystals can be prepared in various ways, the most successful methods being co-crystallisation from solutions and preparation from ground ingredients in a ball mill. A recent modification of solid-state grinding, in which small quantities of solvent are introduced, increase the process of co-crystallisation.

In the scope of this dissertation, we attempted to prepare co-crystals of carvedilol (crystal form II) by grinding with the addition of solvent. To produce the co-crystals we used 11 different amino acids, whose solubility in the solvents used for grinding was previously evaluated.

When we used certain amino acids to form co-crystals, we observed various changes in melting point using differential dynamic calorimetry. Subsequent XRPD showed that it had led to various polymorphic modifications of carvedilol. Some amino acids brought about the conversion of carvedilol form II into a mixture of forms I and II (amino acids arginine, asparagine, alanine, phenylalanine and threonine) or into a mixture of forms I and III (amino acid valine). Certain amino acids (cystine, tyrosine and serine) brought about complete transformation into form I.

When we used ethanol or tetrahydrofurane and ground carvedilol in these solvents without amino acids, this brought about conversion of carvedilol (crystal form II) into a mixture of

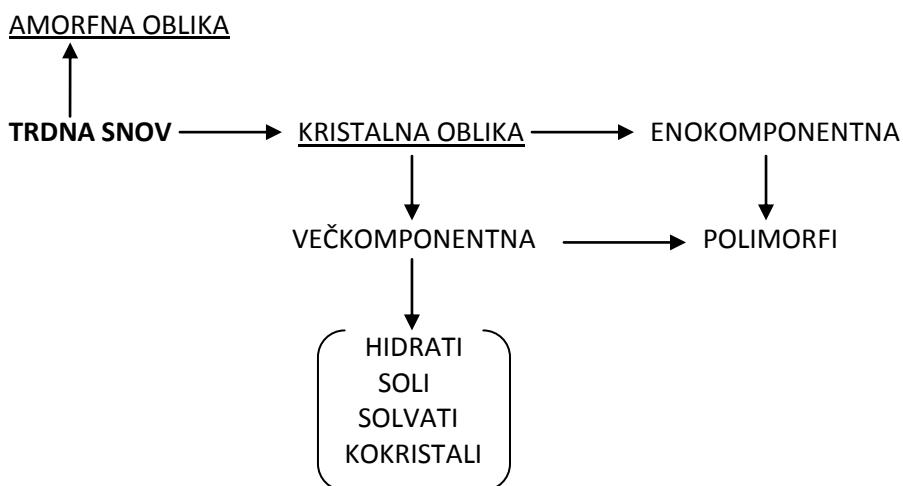
forms I and II. Grinding carvedilol with water or acetone did not change the crystal structure of carvedilol. We were unable to produce co-crystals of carvedilol with the selected amino acids.

SEZNAM OKRAJŠAV

BU	- biološka uporabnost
CSD	- podatkovna baza CSD (Cambridge Structural Database)
CYP	- citokrom P450
DSC	- diferenčna dinamična kalorimetrija (differential scanning calorimetry)
EtOH	- etanol
IR	- infrardeče/-a
MeOH	- metanol
NMR	- jedrska magnetna resonanca (nuclear magnetic resonance)
SSNMR	- jedrska magnetna resonanca v trdnem (solid-state NMR)
THF	- tetrahidrofuran
XRPD	- rentgenska praškovna difrakcija (X-ray powder diffraction)
ZU	- zdravilna učinkovina

1 UVOD

Večina zdravilnih učinkovin se pri normalnih pogojih nahaja v trdnem agregatnem stanju in so najpogosteje vgrajene v trdne farmacevtske oblike - kapsule ali tablete. Farmakokinetične lastnosti zdravilne učinkovine so pogosto odvisne od njenih fizikalno-kemijskih lastnosti. Molekulska struktura vpliva na kristalno strukturo oz. ureditev molekul v prostoru in na fizikalno-kemijske lastnosti. Pri razvoju formulacij lahko fizikalno-kemijske lastnosti optimiziramo s tvorbo soli, hidratov/solvatov, različnih polimorfnih oblik in tvorbo amorfne oblike. V zadnjih letih pa se uveljavlja tvorba kokristalov kot dodatna možnost za spreminjanje pomembnih farmacevtskih lastnosti (slika 1) (1, 2, 3).

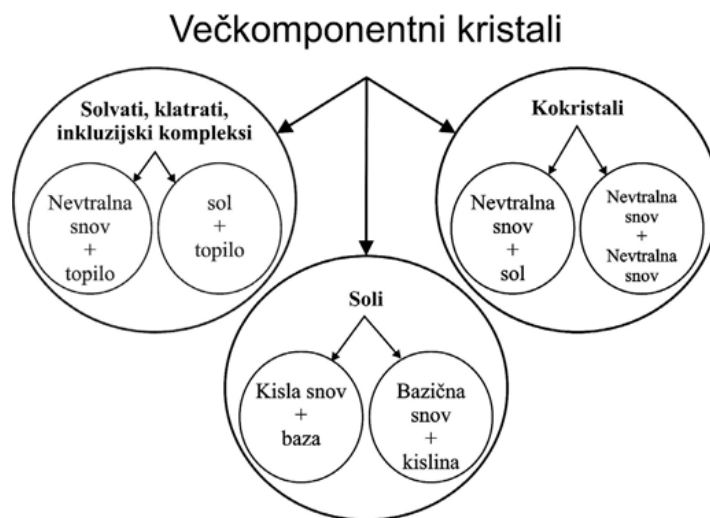


Slika 1. Klasifikacija trdnih snovi (4).

1.1 KOKRISTALI

Kokristali spadajo v skupino t.i. večkomponentnih kristalov, kamor glede na naravo molekul v kristalni rešetki uvrščamo tudi solvate, hidrate, klatrate, inkluzijske komplekse in soli (slika 2) (5).

Večkomponentni kristali so sestavljeni iz dveh ali več komponent, ki so povezane z medmolekulskimi interakcijami (slika 3).



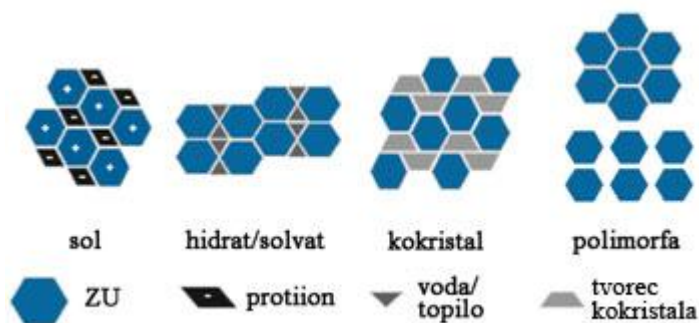
Slika 2. Klasifikacija večkomponentnih kristalov (5).

Zaenkrat še nimamo enotne definicije pojma »kokristal«, saj različni avtorji »kokristal« različno definirajo. Vsem definicijam je skupno, da se pod pojmom kokristal razume enotno kristalinično snov, sestavljeno iz najmanj dveh različnih komponent. Različni avtorji različno definirajo komponento: komponenta je lahko trdna, tekoča, plinasta oziroma atom, ion ali molekula (6, 7).

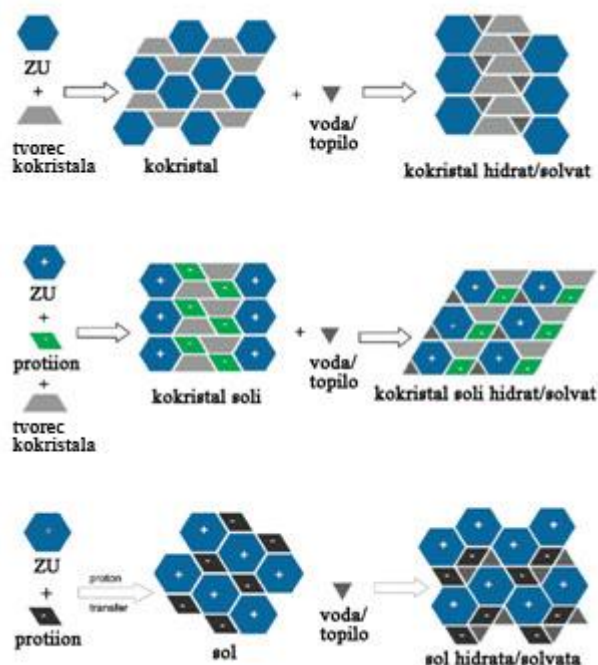
V slovenskem prostoru se uveljavlja naslednja definicija: Kokristali so enotne kristalinične snovi, njihovo kristalno rešetko sestavljajo nevtralne molekule v stehiometrijskem razmerju in so pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju (8).

Razlikovanje med solmi in kokristali temelji na prenosu protona s kisline na bazo. V primeru, da se proton nahaja na bazi, pomeni, da je prišlo do prenosa protona in nastala je sol. Če pa do prenosa protona ne pride in ta ostane na kislini, potem govorimo o kokristalu. Razlika med kokristali in solvati pa je v agregatnem stanju komponent pri normalnih pogojih: pri kokristalih sta obe komponenti v trdnem stanju, pri solvatih pa je ena komponenta v tekočem stanju (6, 9, 10).

Kokristali so najpogosteje sestavljeni iz dveh komponent: tarčne molekule in tvorca kokristala. Lahko pa so kokristali sestavljeni tudi iz treh ali več komponent; v tem primeru je tarčna molekula ponavadi v obliki solvata ali soli in imamo kompleksne večkomponentne kristale: kokristale hidratov/solvatov, soli kokristalov, soli hidratov/solvatov,... (slika 4) (11, 12, 13).



Slika 3. Večkomponentni kristali (14).



Slika 4. Kompleksni večkomponentni kristali (14).

1.1.1 FARMACEVTSKI KOKRISTALI

Farmaceutski kokristal je sestavljen iz zdravilne učinkovine kot tarčne molekule in tvorca kokristala, ki pa je lahko neaktivna snov ali druga zdravilna učinkovina. Poleg zdravilne učinkovine mora biti tudi tvorec kokristala farmaceutsko sprejemljiv. Pomeni, da lahko za tvorca kokristala izberemo substanco, ki je v farmaceutski ali prehrabeni industriji že uveljavljena in velja za splošno varno substanco. Te substance najdemo na seznamih EAFUS (angl. Everything Added to Food) in GRAS (angl. Generally Regarded as Safe) (15, 16).

1.1.2 MEDMOLEKULSKE POVEZAVE V KOKRISTALIH

Kokristali ponujajo možnost izboljšanja fizikalno-kemijskih lastnosti zdravilnih učinkovin brez tvorjenja ali prekinjanja kovalentne vezi (17).

Med interakcijami v kokristalni strukturi je zaradi jakosti in usmerjenosti najpomembnejša vodikova vez. Poleg te vezi so pomembne tudi Van der Waalsove in π - π interakcije (12).

Strukturne enote oz. funkcionalne skupine, ki povezujejo molekule med seboj z nekovalentnimi interakcijami, imenujemo sintoni. V farmacevtskih in bioloških sistemih sta pomembna sintona karboksi dimer $\text{OH}\cdots\text{O}$ pri karboksilnih kislinah in karboksamidni dimer $\text{NH}\cdots\text{O}$ pri amidih (18).

Več funkcionalnih skupin je prisotnih v molekulah zdravilne učinkovine in tvorca kokristala, večja je možnost tvorbe farmacevtskega kokristala (19). Za tvorbo kokristalov so največkrat primerne zdravilne učinkovine, ki so toge, simetrične, vsebujejo močne nevezne interakcije in imajo nizko molekulsko maso (20).

1.1.3 LASTNOSTI IN UPORABNOST FARMACEVTSKIH KOKRISTALOV

Poleg že dolgo uporabljanih možnosti spreminjanja zdravilne učinkovine (soli, solvati/hidrati, polimorfi, amorfne oblike) se kot dodatna možnost uveljavlja tvorba kokristalov.

Večina zdravilnih učinkovin kaže polimorfizem, kar pa lahko predstavlja problem pri izdelavi farmacevtskih oblik zaradi prehoda nestabilnih polimorfov v stabilnega, s čimer se spreminjajo tudi njihove fizikalno-kemijske lastnosti (15). Pri solvatih farmacevtsko uporabo omejujejo topila, ki največkrat niso fiziološko indiferentna, hkrati pa imajo visok parni tlak in težnjo po desolvataciji (5). Ostanjejo še soli, pri katerih pa je pomembno poudariti, da je njihova tvorba pogojena s prisotnostjo kisle oz. bazične funkcionalne skupine v molekuli učinkovine.

V primeru nevtralnih molekul tvorba soli ni mogoča; v takšnem primeru kot možnost spreminjanja fizikalno-kemijskih lastnosti preostane tvorba kokristalov.

Poleg izboljšanja fizikalno-kemijskih lastnosti zdravilne učinkovine so kokristali v farmacevtski industriji primerni tudi za izolacijo in čiščenje zdravilnih učinkovin, v primeru, da je tvorec kokristala kiralna spojina, se kokristali lahko uporabijo za ločevanje enantiomerov (15).

Pri farmacevtskih kokristalih teoretično obstaja večje število potencialnih tvorcev kokristalov za določeno zdravilno učinkovino in s tem večje možnosti za prirejanje fizikalno-kemijskih lastnosti. Vzrok za spremenjene lastnosti ZU (zdravilne učinkovine) je v spremenjeni legi molekule v kristalni rešetki in spremenjenih medmolekulskih povezavah. Na spremembo lastnosti ZU ima velik vpliv tvorec kokristala (8). Lastnosti, ki

so pomembne za farmacevtsko uporabo ZU in jih lahko spreminjamo s tvorbo kokristalov so:

Temperatura tališča

Temperatura tališča je bistvena fizikalna lastnost, ki je določena s temperaturo, pri kateri je trdna faza v ravnatežju s tekočo. Na temperaturo tališča kristalinične snovi vplivajo različni dejavniki, npr. molekularna razporeditev znotraj kristalne rešetke, molekularna simetrija, intermolekularne interakcije in konformacijske prostostne stopnje molekule. V večkomponentnem sistemu, kot je kokristal, je situacija še bolj kompleksna, ker ima vsaka komponenta svoje lastnosti in te vplivajo na okolje in intermolekularne interakcije svojega sosedu.

Schultheiss in sodelavci so naredili pregled tališč objavljenih kokristalov in primerjavo le teh s tališči ZU in tvorca kokristala. Po pregledu 50 različnih kokristalov so ugotovili, da ima 51% kokristalov tališče med tališčem ZU in tvorca kokristala, 39% kokristalov ima nižje tališče od tališč obeh komponent, 6% jih ima tališče višje od obeh komponent in 4% kokristalov ima enako tališče kot ZU ali tvorec kokristala (14).

S tališča farmacevtske tehnologije je uporabno predvsem znižanje temperature tališča ZU, saj se s tem lahko izognemo težavam, povezanih s termolabilnostjo ZU v procesih, ki potekajo pri višjih temperaturah, t.j. v talini (18).

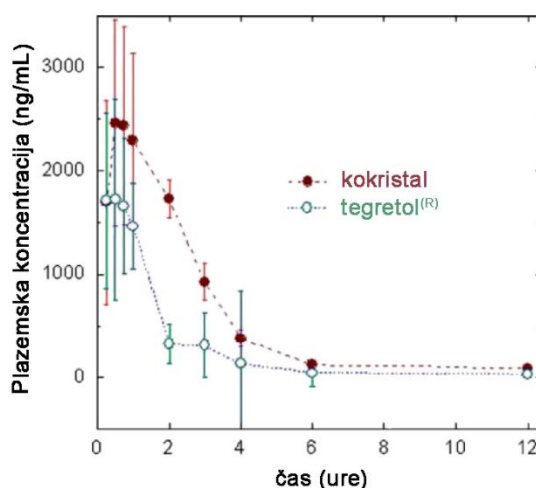
Topnost, hitrost raztapljanja, biološka uporabnost, farmakološke lastnosti

V zgodnjih fazah razvoja novega zdravila je eden izmed pomembnejših parametrov topnost in posledično hitrost absorpcije zdravilne učinkovine. Slaba topnost ZU je lahko posledica visoke lipofilnosti molekule ali/in močnih medmolekulskih interakcij, ki zahtevajo več energije za raztapljanje. Razumevanje teh bistvenih parametrov lahko vpliva na načrtovanje formulacij in hitrost razvoja zdravilnih učinkovin. Preučevanje topnosti novih kokristalov v zgodnjih fazah razvoja zdravila lahko pomaga pri iskanju primernih rešitev za izboljšanje topnosti slabo topnih učinkovin (21). Dobro poznani so primeri izboljšanja topnosti in hitrosti raztapljanja kokristalov karbamazepina, fluoksetina, itrakonazola, sildenafilu.

Povečana topnost lahko občutno poveča absorpcijo in biološko uporabnost zdravilnih učinkovin, kar pomeni, da dosežemo višjo koncentracijo zdravilne učinkovine v plazmi kot po aplikaciji istega odmerka čiste učinkovine in s tem večji učinek (8, 22). Ker lahko s

kokristalizacijo povečamo topnost molekul kandidatk, s tem razširimo nabor molekul primernih za nadaljnje študije pri iskanju primerne zdravilne učinkovine (23).

Hickey in sodelavci so s pripravo kokristala karbamazepina in saharina uspešno izboljšali topnost, zmanjšali število možnih polimorfov in s tem povečali stabilnost učinkovine. Tudi študija biološke uporabnosti na psih je pokazala občutno izboljšanje absorpcije kokristala, v primerjavi z obstoječim izdelkom na trgu (slika 5) (24). McNamara in sodelavci so s pripravo kokristala med ZU (2-[4-(4-kloro-2-fluorofenoksi)fenil]pirimidin-4-karboksamid, ki je zaviralec Na kanalov, možna uporaba pri preprečevanju in zdravljenju kirurške, kronične in nevropatske bolečine), in glutarno kislino povečali biološko uporabnost ZU, kar so potrdili s študijo na psih. Študija je primerjala BU (biološko uporabnost) kokristala v primerjavi s čisto ZU (23).



Slika 5. Plazemske koncentracije karbamazepina pri psih po enkratnem odmerku 200 mg Tegretola® oz. kokristala (24).

Poleg opisanih je znan tudi primer poginov domačih živali zaradi hrane, ki je vsebovala dve relativno netoksični substanci – melamin in cianursko kislino, ki sta bili v hrani prisotni v manjši količini, kot je toksični odmerek. Zaradi nastanka kokristala melamin : cianurska kislina 1:1, ki je praktično netopen v vodi, je prišlo do obarjanja kokristala v ledvicah, kar je povzročilo zamašitev ledvičnih tubulov (22).

Higroskopsnost

Pomembna lastnost zdravilnih učinkovin je tudi stabilnost pri povišani relativni vlažnosti zraka, kar je povezano s procesiranjem, formuliranjem, pakiranjem in shranjevanjem. Pogosto se zgodi, da vlaga povzroči neželene spremembe zdravilne učinkovine, kot so polimorfne transformacije, tvorba hidrata ali obarjanje amorfne oblike, kar lahko vpliva na varnost in biološko uporabnost zdravila.

Uveljavljen je pristop racionalnega izbora pomožnih snovi za posamezno formulacijo, s katerimi zmanjšamo vpliv vlage in neželene spremembe. Učinkovit pristop pri reševanju problema nestabilnosti zdravilnih učinkovin zaradi povišane zračne vlažnosti je lahko tudi kokristalizacija zdravilne učinkovine (25).

Basavoju s sodelavci je pripravil kokristal indometacin : saharin (stehiometrijsko razmerje 1:1), ki je nehigroskopno v primerjavi s čistim indometacinom (26). Pojav manjše higroskopnosti kokristalov v primerjavi s čisto učinkovino ni pravilo. Tako so Trask in sodelavci ugotovili, da kokristal kofeina in oksalne kisline ni higroskopno, medtem ko kokristali kofeina z malonsko kislino in maleinsko kislino vežejo vodo, pri čemer kokristal razpade in nastane hidrat kofeina (27).

Vpliv vlage na stabilnost praškastih farmacevtskih snovi lahko zelo hitro in enostavno preučimo z metodo dinamične sorpcije pare (angl. Dynamic Vapour Sorption – DVS), ki temelji na zelo natančnem gravimetričnem merjenju sorpcije in desorpcije v odvisnosti od relativne vlažnosti zraka. Sorpcijske eksperimente izvajamo prvenstveno z vodo, lahko pa tudi z organskimi topili (28).

Kemijska stabilnost

Tvorba kokristala v določenih primerih izboljša kemijsko stabilnost zdravilne učinkovine, če je stabilnost oz. nastanek razpadnega produkta pogojena z določeno konformacijo molekule v trdnem stanju. V primeru molekule karbamazepina je fotokemijska stabilnost molekule odvisna od strukture kristala in razporeditve molekul v njem. Spremenjena konformacija molekule v kokristalu je razlog za izboljšano kemijsko stabilnost te učinkovine (18).

Mehanske lastnosti

Oblika kristalov in velikost delcev ZU sta pomembni lastnosti trdnih kristalnih snovi, ki lahko vplivata na razvoj in proces izdelave zdravil (pretočne lastnosti, stisljivost, sedimentacija, hitrost raztapljanja) (29). Zaradi drugačne notranje strukture kristala se lahko spremeni tudi zunanja oblika ali morfologija in s tem mehanske lastnosti delcev, vendar se moramo pri tem zavedati, da ima na obliko delcev zelo velik vpliv postopek kristalizacije (29, 30). V primeru (ko)kristalizacije norfloksacina v prisotnosti saharina so ob enakih pogojih nastali delci norfloksacinjevega saharinata dihidrata (sol), ki so imeli obliko dolgih iglic, hkrati pa so nastali tudi delci kokristala norfloksacin saharinat : saharin (kokristal soli in nevtralne molekule) v obliki dolgih ploščic (12).

Kokristali in intelektualna lastnina

Kokristali, v katerih je zdravilna učinkovina povezana s tvorcem kokristala, lahko izpoljujejo pogoje patentne zaščite (31). Patent lahko podelijo izumu, ki izpolnjuje tri pogoje: novost, inventivnost in industrijska uporabnost (32).

Kokristalizacija pomeni alternativno modifikacijo zdravilne učinkovine v trdnem agregatnem stanju, kar pomeni, da gre za podobno spremembo, kot jo dosežemo s tvorbo soli in zatorej kokristali pravno zadostijo kriteriju novosti za patentibilnost. Za koncept inventivnosti pri kokristalih lahko najdemo analogijo v kristalnih oblikah zdravilnih učinkovin. Industrijska uporabnost se v primeru kokristalov kaže v prednostih, ki jih imajo kokristali zaradi izboljšanih fizikalno-kemijskih lastnosti v primerjavi s samo zdravilno učinkovino (8).

Ker obstaja veliko število molekul, ki jih lahko uporabimo kot tvorce kokristala, je možnosti za patentiranje kokristalov veliko (31).

1.1.4 POLIMORFIZEM PRI KOKRISTALIH

V zadnjem času se je pojavil interes po preučevanju polimorfizma pri farmacevtskih kokristalih, saj polimorfi v splošnem omogočajo dodatne možnosti za spreminjanje lastnosti ZU, širijo področje patentne zaščite in omogočajo izboljšanje formulacij, ki so na trgu. Polimorfi izkazujejo različne lastnosti: stabilnost (metastabilen polimorf se lahko pri primerni temperaturi spontano pretvori v stabilnega), temperaturo tališča, topnost, ki je povezana s hitrostjo raztapljanja in s tem tudi z BU. V preglednici I so predstavljeni kokristali, ki se lahko nahajajo v različnih polimorfni modifikacijah (4).

Preglednica I. Primeri kokristalov, ki se lahko nahajajo v različnih polimorfnih modifikacij, z opisanimi lastnostmi. Povzeto po (4) in (14).

kokristal	lastnost
karbamazepin : nikotinamid	/
karbamazepin : saharin	Pri kristalizaciji iz topil oz. zmesi topil in pri mletju z dodatkom topila vedno nastane oblika I, ki je stabilna in se ne pretvarja v obliko II. Edino pri kristalizaciji iz polimera »heteronuclei« je nastala oblika II.
karbamazepin : izonikotinamid	/
etoksibenzamid : saharin	Z mletjem nastane le oblika II (metastabilna polimorfna modifikacija), s kristalizacijo iz raztopine nastaneta oba polimorfa (oblika I in oblika II).
piroksikam : 4-hidroksibenzojska kislina	Piroksikam obstaja v trdnem stanju v dveh tautomernih oblikah (v obliki neioniziranega tautomera in v obliki zwitter ionskega tautomera). Vodikove vezi, ki nastanejo, so različne pri obliki I in II (v tem primeru gre za polimorfizem sintonov).
kofein : glutarna kislina	Z mletjem nastaneta oba polimorfa (oblika I in oblika II): mletje brez topila oz. mletje z dodatkom nepolarnega topila omogoči nastanek oblike I, mletje z dodatkom polarne topila omogoči nastanek oblike II. Polimorfa se razlikujeta v občutljivosti na vlago: oblika II je bolj stabilna v prisotnosti vlage kot oblika I, saj se ta pod vplivom vlage pretvarja v obliko II.
klorzoksazon : 2,4-dihidroksibenzojska kislina	Oblika I nastane pri kristalizaciji iz THF (tetrahydrofurana), oblika II pri kristalizaciji iz etil acetata. Z mletjem brez dodatka topila nastane le oblika II.

1.2 NAČRTOVANJE KOKRISTALOV

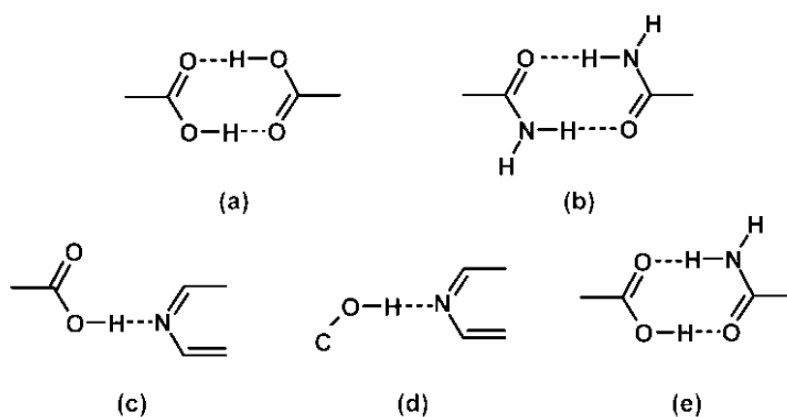
Za povečanje eksperimentalne učinkovitosti tvorbe kokristalov uporabljamo »inženiring kokristalov« oz. načrtovano pripravo farmacevtskih kokristalov. Prva stopnja načrtovanja je analiza obstoječih kristalnih oblik, ki jo lahko izvedemo s pomočjo Cambridgeove strukturne podatkovne baze (angl. Cambridge Structural Database - CSD). Najprej moramo analizirati tarčno molekulo ZU. S pomočjo baze pridobimo statistično analizo kristalnih oblik in razporeditev molekul v kristalu. Tako pridemo do empiričnih podatkov o tem, kako so orientirane funkcionalne skupine in kakšne so možnosti medmolekulskih povezav preko sintonov (15). Sledi iskanje primernih tvorcev kokristalov, ki morajo biti čim bolj komplementarni s tarčno molekulo. Sposobnost ZU in tvorca kokristala, da se vgradi v kokristal, je povezana z njunima molekulskima strukturama, lego molekule v kristalu, možnostjo nastanka vodikovih vezi in gibljivostjo molekule, zato ni mogoče zagotovo napovedati, ali bo med dvema komponentama kokristalizacija potekla. Lahko si pomagamo z računalniškimi modeli in simulacijami, a prav zaradi prej opisane kompleksnosti so še vedno potrebni empirični poskusi (18).

Sintoni

S pomočjo sintonov, ki jih najdemo v podatkovni bazi CSD, lahko ocenimo, kakšne so možnosti medmolekulskih povezav med funkcionalnimi skupinami tarčne molekule in potencialnega tvorca kokristala. Če upoštevamo hierarhijo sintonov, ki se pojavljajo med množico funkcionalnih skupin, in dejstvo, da so določene funkcionalne skupine (karboksilne kisline, amidi, alkoholi) posebej primerne za tvorbo heterosintonov, nam to znanje olajša izbiro komplementarne komponente, ki bo lažje tvorila medmolekulske vodikove vezi in bo vodila do nastanka kokristalov.

Sintone delimo v dve skupini: homosintoni so sestavljeni iz dveh identičnih, komplementarnih funkcionalnih skupin, medtem ko so heterosintoni sestavljeni iz različnih, komplementarnih funkcionalnih skupin (slika 6). V obeh primerih je med funkcionalnimi skupinami ponavadi vodikova vez. Za nastanek kokristala je ključno, da tvorba heterosintonov prevladuje nad tvorbo homosintonov (33).

Komplementarni heterosintoni, ki dajejo prednost nastanku kokristala, so že dobro raziskani in poenostavljeno jih ponazorimo s pari: karboksilna kislina – dušikov heterocikel, karboksilna kislina – amid, alkohol – dušikov heterocikel (22, 33). Omenimo lahko, da v opisanih kokristalih najpogosteje nastopa ena molekula s karboksilno kislino in druga z dušikovim heterociklom (8).



Slika 6. Primeri homosintonov (a, b) in heterosintonov (c, d, e) (33).

1.3 METODE IZDELAVE KOKRISTALOV

Kokristale lahko pripravimo na različne načine, najbolj uveljavljeni metodi sta kokristalizacija iz raztopine in priprava z mletjem sestavin v krogličnem mlinu. Kokristale lahko pripravimo tudi s kokristalizacijo iz koncentrirane suspenzije, iz taline, s sublimacijo sestavin ali z delikvescenco sestavin pri visoki relativni vlažnosti, vendar so te metode bolj zapletene in se manj uporabljajo (19, 34, 35).

1.3.1 KOKRISTALIZACIJA IZ RAZTOPIN

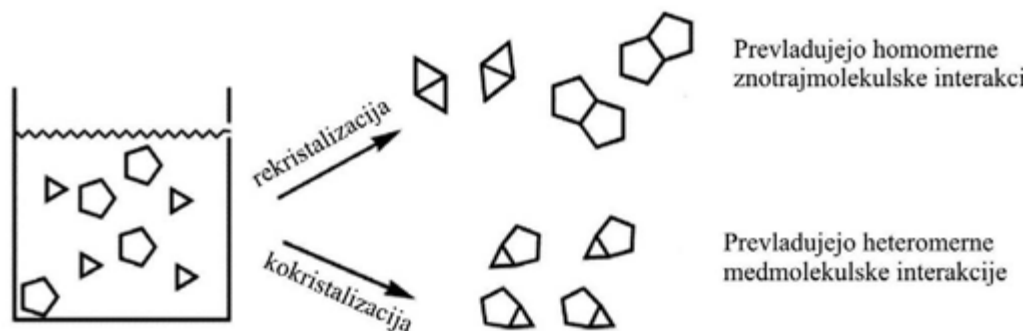
Kokristale pogosto pripravljamo s kristalizacijo iz raztopine, in sicer z odparevanjem topila, ohlajanjem raztopine ali z dodajanjem netopila. Ključno pri kokristalizaciji iz raztopin je stehiometrijsko razmerje obeh komponent kokristala, zlasti če odparimo topilo do suhega. Če ne uporabimo ustreznega stehiometrijskega razmerja, pride do obarjanja prebitne komponente, ki jo moramo nato ločiti od nastalih kokristalov.

Pri pridobivanju kokristalov iz raztopin ima pomembno vlogo tudi izbira topila. Pomembno je, da sta obe komponenti podobno topni v izbranem topilu, sicer se najprej obori manj topna komponenta.

Prednost pridobivanja kokristalov iz raztopine je možnost pridobitve velikih, dobro oblikovanih kokristalov, s katerimi lahko vrednotimo kristalno strukturo z uporabo rentgenske analize monokristala, ki je poznana kot najboljša metoda za določanje kristalne strukture.

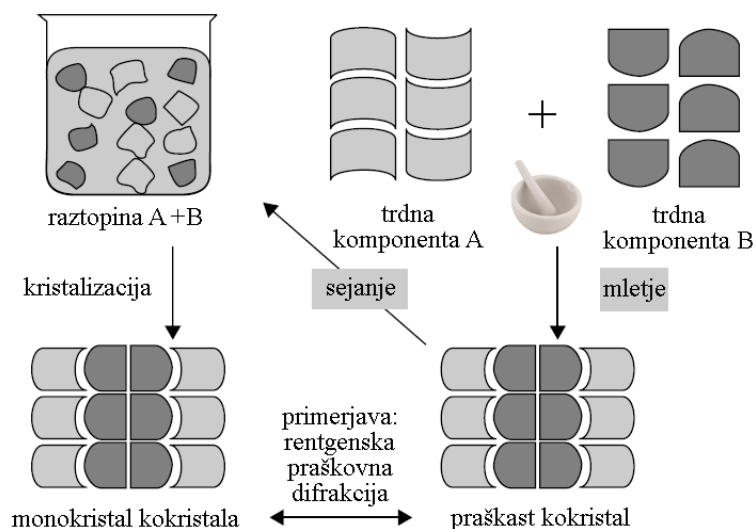
Pomanjkljivosti pridobivanja kokristalov iz raztopin se kažejo v problemih s topnostjo začetnih komponent v izbranem topilu. Topnost obeh komponent mora biti zadostna in primerljiva, da ne bi prišlo do neželenega obarjanja manj topne. A tudi podobna topnost ne zagotavlja uspešne kokristalizacije. Možno je, da topilo, ki ga uporabimo pri kokristalizaciji, vpliva na medmolekulske interakcije in postane del kristalne rešetke. Tako lahko nastane solvat, ki ovira nastanek načrtovanega kokristala. Dodatno težavo pri tej metodi predstavlja velika poraba topil.

Priporočljivo je, da uporabimo za kokristalizacijo tiste učinkovine in pomožne snovi, ki lahko tvorijo več polimorfni oblik. Če obstaja molekula v več polimorfni oblikah, ima večjo strukturno fleksibilnost in ni ujeta le v določen tip kristalne rešetke. To pomeni večjo verjetnost, da se molekula postavi v primerno konformacijo za hkraten obstoj v kristalni rešetki z drugo molekulo (36). Vseeno sam polimorfizem ni zagotovilo, da je izbrana spojina ustrezna komponenta za kokristalizacijo, ključno vlogo pri tem igra jakost heteromernih medmolekulskih interakcij preko sintonov, ki morajo presegati homomerne znotrajmolekulske interakcije (slika 7) (12, 37).



Slika 7. Kokristalizacija iz raztopine: dominacija homomernih znotrajmolekulskih interakcij vodi do rekristalizacije, dominacija heteromernih medmolekulskih interakcij vodi do kokristalizacije (38).

Da bi se izognili nekaterim težavam pri pridobivanju kokristalov iz raztopin in vzgojili dovolj velike monokristale, ki so dovolj kvalitetni za rentgensko analizo monokristalov, raziskovalci čedalje bolj uporabljajo tudi metodo sejanja kokristalov (angl. cocrystal seeding). Pridobivanje kokristalov s sejanjem poteka podobno kot pridobivanje iz raztopine. Obe komponenti, ki ju želimo združiti v kokristal, ob segrevanju raztopimo v topilu. Ko se topilo ohladi in preden se začne kokristalizacija, dodamo v raztopino semena kokristalov, ki vzpodbudijo nukleacijo kokristalov iste oblike kot v semenih (slika 8). S sejanjem lahko pridobimo obliko kokristala, katerega nastanek je kinetično manj ugoden. Tako lahko kokristale, pridobljene z mletjem ali s katero drugo metodo, pretvorimo v dovolj velike monokristale, primerne za rentgensko analizo (23, 39, 40).



Slika 8. Pridobivanje kokristalov iz raztopine ali z mletjem (17).

1.3.2 PRIDOBIVANJE KOKRISTALOV Z MLETJEM

Tvorba kokristalov v trdnem stanju temelji na mehanski aktivaciji komponent z mletjem (12).

Kokristale s (suhim) mletjem pripravimo tako, da pomešamo obe komponenti v izbranem stehiometrijskem razmerju in ju zmeljemo, ročno s pestilom v možnarju ali, bolje, z uporabo krogličnega oziroma vibracijskega mlina.

Mletje, napram pridobivanju kokristalov iz raztopine, predstavlja metodo, pri kateri topnost vhodnih komponent v določenem topilu ni pomembna in zato zelo razširi njeno uporabnost. Dodatna prednost mletja brez topila je, da je nastanek neželenih solvatov manj verjeten (41). Spoznanje, da majhen kontroliran dodatek topila med mletjem izboljša proces in poveča kinetiko nastanka kokristalov, je prineslo pomemben napredek pri mletju (42). Mletje z dodatkom topila nudi številne prednosti pred kokristalizacijo iz topila. Tako ni potrebno, da sta obe komponenti dobro topni v dodanem topilu, izkoristek je večji in večja je kristaliničnost produkta. Z izbiro pravega topila je mogoče kontrolirati nastanek polimorfov. V določenih primerih lahko z mletjem z dodatkom topila dobimo kokristale, ki jih ni mogoče pridobiti s kokristalizacijo iz topila (43).

Obe metodi, suho mletje in mletje z dodatkom topila, sta se uveljavili kot hitri in visoko učinkoviti metodi za reševanje kokristalov, soli in polimorfni oblik farmacevtskih učinkovin (44, 45).

Mletje predstavlja zanimivo alternativo uporabi topil tudi zato, ker velja za okolju prijazno sintezno kemijo, saj je malo ali nič odpadnih produktov pri odkrivanju in procesiranju novih ali obstoječih učinkovin. Pri pripravi kokristalov z omenjeno metodo ne potrebujemo velikih količin topila. Torej se priprava kokristalov z mletjem sklada z načeli t.i. zelene kemije (ang. Green chemistry). Gre za filozofijo, ki spodbuja načrtovanje produktov in procesov, ki v kemijskih raziskavah zmanjšajo porabo in ustvarjanje okolju nevarnih substanc (46).

1.3.3 MLETJE BREZ TOPILA

Glede na literaturne vire lahko kokristalizacija z mletjem poteka po večih mehanizmih in vsak izmed njih vsebuje različen tip vmesne faze. Podrobno preučeni mehanizmi vključujejo: molekularno difuzijo, tvorbo evtektika in kokristalizacijo preko amorfnе faze. Vsem trem različnim mehanizmom je skupno, da molekule (plin, tekočina, amorf) v vmesni fazi izkazujejo povečano mobilnost in/ali višjo energijo glede na njihove začetne

kristalne oblike. Čeprav so v naslednjih primerih predstavljene študije za vsak mehanizem posebej, lahko v praksi kokristali nastajajo hkrati z nekaj ali z vsemi predstavljenimi mehanizmi (41).

Kokristalizacija z mletjem (brez topila) preko molekulske difuzije

Kokristalizacija preko molekulske difuzije med dvema trdnima reaktantoma je mogoča, ko ima eden ali oba reaktanta visok parni tlak. V takih sistemih se tvorba kokristala lahko pojavi na stiku med trdnima reaktantoma, celo v odsotnosti mletja in mešanja. Rastogi in sodelavci so ugotovili, da sta površinski premik in difuzija plinaste faze osnovna mehanizma tvorbe kokristala pikrinske kisline z aromatskimi ogljikovodiki (47).

Enaki mehanizmi verjetno potekajo pri mletju hlapnega p-benzokinona z različnimi fenolnimi derivati (48). Pri izpostavitvi kristalov 2,2-difenola param p-benzokinona opazimo nastanek kokristala, kar kaže, da tvorba kokristala poteka preko difuzije plinaste faze (49).

Kokristalizacija z mletjem preko vmesne tekoče faze

Pri tej metodi je tvorba kokristala pospešena z vmesno tekočo fazo, ki nato postane del trdnega kokristalnega produkta. Najenostavnejši je primer mletja dveh komponent, od katerih je ena komponenta pri sobnih pogojih v tekoči obliki. Tako dobimo solvate. V primeru kokristalizacije z mletjem preko vmesne tekoče faze, kjer dodamo k dvema komponentama še nekaj vode, da pospeši tvorbo kokristala, se lahko nepričakovano tvori kokristal hidrat (50). Kokristalizacija z mletjem poteka preko vmesne tekoče faze tudi v primerih, ko komponente kokristala tvorijo podhlajene, metastabilne evtektične faze, ki se pozneje strdijo in tvorijo kokristal (51).

Nastanek kokristalov hidratov

Dodatek topila pri mletju zmesi dveh komponent kokristala lahko včasih omogoči kokristalizacijo tako, da nastane produkt, ki vključuje molekule topila kot sestavni del kokristala. Iz tega razloga je mletje s tekočimi komponentami vsestranska tehnika za odkrivanje trikomponentnih kokristalov. V nekaterih primerih lahko nastanek trikomponentnega kokristala hidrata pri mletju dosežemo z uporabo vode kot reaktanta ali z uporabo enega ali več kristalnih hidratov (50).

Nastanek evtektika

Davey in sodelavci so na primeru kokristala difenilamina in benzofenona preučevali nastanek kokristala iz predhodno nastale metastabilne evtektične tekoče faze. Če pomešamo difenilamin in benzofenon, obe brezbarvni komponenti kokristala, opazimo nastanek rumene faze, na mejni površini obeh komponent. Mikroskopsko opazovanje mejne površine med dvema makroskopskima monokristaloma difenilamina in benzofenona je pokazalo taljenje površine, ki poteče, dokler ni večina materiala pri sobni temperaturi preoblikovana v tekočino. Sledi nukleacija kokristala, ki povzroči, da se celotna talina strdi in tvori trden kokristal. Mletje ima na nastanek kokristalov pri kokristalizaciji, posredovani z nastankom evtektika, dvojni vpliv. Prvič, mletje razkrije nove površine reaktanta za tvorbo evtektika, in drugič, z vzpodbujanjem nukleacije kokristala poveča tvorbo kokristala v evtektični fazi (51).

Kokristalizacija preko amorfnе faze

Tvorba amorfnega intermediata je najverjetnejši mehanizem nastanka kokristala pri kokristalizaciji trdnih snovi, ki niso hlapne in so povezane z močnimi medmolekulskimi interakcijami (vodikove vezi) oz. kjer ni difuzije molekul (52).

Če kokristalizacija poteka preko amorfnе faze snovi, je hitrost kokristalizacije odvisna od pogojev mletja (temperatura) in od temperature steklastega prehoda reaktantov. Tako v primeru tvorbe kokristala karbamazepin-saharin z mletjem obeh komponent proces kokristalizacije poteče hitreje pri sobni temperaturi kot v hladnejših pogojih, kjer je amorfnа faza bolj stabilna (53).

Dodatek pomožne snovi z nizko temperaturo steklastega prehoda deluje kot mehčalo, saj zniža temperaturo steklastega prehoda zmesi in tako poveča mobilnost molekul in hitrost kokristalizacije. Voda je primer učinkovitega mehčala, saj je tvorba kokristalov pospešena, ko uporabijo hidratirano kristalno obliko reaktanta ali ko pri mletju uporabljamo zelo majhno količino vode (18, 53).

1.3.4 MLETJE Z DODATKOM TOPILA

Mletje, pri katerem zmesi praškov dodamo nekaj kapljic ustreznega topila, pogosto uporabljamo pri sintezi kokristalov. Dodano topilo mora imeti ustrezno polarnost in mora topiti eno od sestavin, ali pa delno topiti obe sestavini. V nasprotju s kokristalizacijo z mletjem, posredovano z vmesno tekočo fazo, kjer se tekoča faza porablja v samem postopku kokristalizacije, ima tekoča faza pri mletju z dodatkom topila katalitično vlogo

(54). Dodano topilo načeloma ne izginja med reakcijo, razen, če izhlapeva. Izjema so reakcije, kjer molekule tekoče faze oblikujejo porozno ogrodje in lahko posledično ostanejo rahlo ujete v strukturi produkta.

Še vedno ni popolnoma jasno, kako tekoča faza pripomore k boljši učinkovitosti mletja z dodanim topilom, glede na navadno mletje (55). V nekaterih primerih naj bi imel dodatek majhne količine topila čisto fizikalno vlogo, topilo naj bi delovalo kot lubrikant in medij za pospešitev molekulske difuzije. V ostalih primerih naj bi imelo topilo pri mletju vpliv na oblikovanje zgradbe kokristalnega ogrodja (43).

Topilo kot medij za difuzijo molekul

Uspešnost mletja z dodatkom topila je odvisna od kemijske narave topila, ki ga dodamo. Dokaze za to najdemo v analizi trikomponentnih faznih diagramov z nikotinamidom in cimetovo kislino z dodatkom nekaj kapljic vode ali metanola, ki so jo opravili Chiarella, Davey in Peterson (56). Analiza faznih diagramov omogoča razlago, zakaj je težko dobiti kokristal iz raztopine. Kokristalizacija iz raztopine, v kateri sta obe komponenti bistveno različno topni, se bo prej končala z obarjanjem ene izmed komponent kokristala, medtem ko pri kokristalizaciji iz raztopine, v kateri sta obe komponenti podobno topni, lahko pričakujemo nastanek kokristala. Ker reakcije mletja z dodatkom topila praviloma potekajo v področju faznega diagrama, kjer je vsebnost topila nizka, pričakujemo, da bo kokristal vedno termodinamsko najstabilnejša faza. Relativne topnosti obeh komponent imajo majhen pomen na kontrolo izida mletja z dodatkom topila. Zaradi tega razloga smatramo, da ima topilo velik pomen pri povečanju difuzije molekul in povezovanju komplementarnih komponent (57).

Kontrola izida kokristalizacije z izbiro topila

Lastnosti dodanega topila, ki ga uporabimo pri mletju, lahko imajo odločilen pomen pri postopku kokristalizacije. Braga in sodelavci so na primeru zmesi pimelinske kisline in 1,1'-di(4-piridi)ferocena odkrili, da pri mletju komponent brez topila ne dobimo novega kristaliničnega materiala. Če so to zmleto zmes izpostavili hlapom aprotičnih topil (diklorometana, kloroforma, dietiletra, nitrometana in etil laktata) je nastal kokristal, medtem ko hlapi protičnih topil (metanola, etanola, vode ali izopropil alkohola) vodijo v nastanek piridinijeve soli. Zanimivo je, da so pri mletju teh istih komponent z dodanim metanolom ali diklorometanom vedno dobili kokristal. Ti rezultati kažejo, da lahko

lastnosti topila vplivajo na potek kokristalizacije z mletjem, tudi v primeru dodatka minimalnih količin topila (58).

Vpliv topila na nastanek kokristala pri mletju z dodatkom topila so pojasnili tudi Trask in sodelavci na primeru kokristalizacije kofeina in glutarne kisline. Kokristalizacija iz raztopine obeh komponent iz čistega kloroforma ali iz čistega metanola je težavna, zaradi občutno različnih topnosti obeh spojin v teh topilih. Rast kokristala iz zmesi kloroforma in metanola vodi k nastanku monokristala kokristala glutarne kisline in kofeina v razmerju 1:1, v dveh polimorfnih oblikah, A in B. Toda pri mletju z dodatkom topila obeh komponent, v prisotnosti majhne količine cikloheksana, nastane izključno kokristal oblike A, medtem ko pri mletju s kloroformom dobimo kokristal oblike B (43).

1.3.5 OSTALE METODE PRIPRAVE KOKRISTALOV

Kokristale lahko pripravimo s kokristalizacijo iz taline. Eno izmed komponent kokristala segrejemo nad temperaturo tališča, tako da je komponenta tekoča, druga komponenta je v trdnem stanju. Ko pride trdna komponenta v stik s tekočo, se deloma raztopi. Sistem nato počasi ohlajamo, da pride do rekristalizacije. Iz rekristalizirane taline lahko nato s pomočjo mikroskopa in z uporabo različnih filtrov ugotovljamo, ali je prišlo do nastanka kokristala. Metoda je uporabna predvsem za reševanje kokristalov, saj z njo ni mogoče dobiti čistih kokristalov (59, 60).

Kokristale lahko pripravimo tudi iz koncentrirane suspenzije. Zmes obeh komponent raztopimo v manjši količini topila, tako da dobimo prenasičeno raztopino. To nato nekaj dni mešamo pri sobnih pogojih. Kokristal nastane posredno iz raztopine. Metoda je primerna le za odkrivanje novih kokristalov, ni primerna za pridobivanje večjih količin kokristalov, saj so količine kokristalov, ki jih pridobimo, majhne (61). Dodaten problem pri pridobivanju kokristalov s to metodo predstavljajo nečistote, ki lahko nastanejo pri kokristalizaciji. Možen je nastanek polimorfov in hidratov samih komponent kot tudi kokristalov (62).

1.4 METODE KARAKTERIZACIJE KOKRISTALOV

Komponente v kokristalu so urejene na edinstven način in kristalna struktura kokristala se razlikuje od struktur posameznih komponent. Zato so za karakterizacijo kokristalov primerne vse metode, ki nam podajajo informacijo o kristalni strukturi.

Kot prvo nas pri procesu izdelave zanima, ali je kokristalizacija uspešno potekla. Pri tem si pomagamo z naslednjimi metodami: diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC),

termogravimetrična analiza (TGA), rentgenska praškovna analiza (XRPD), ramanska in infrardeča (IR) spektroskopija, jedrska magnetna resonanca. V primeru, da kokristal ne nastane, so spektri vzorcev vsota spektrov izhodnih komponent. Če pa komponente tvorijo skupno kristalno strukturo, so pripadajoči spektri drugačni: V DSC-spektru vidimo eno samo tališče; v XRPD-difraktogramu se pojavijo odkloni pri kotih, ki jih ni v XRPD spektrih izhodnih komponent; v ramanskem in IR spektru zaznamo signale, ki so rezultat novih interakcij in drugačno »fingerprint« območje. Vendar s temi metodami ne moremo razlikovati, za kakšne večkomponentne kristale gre: za solvate, soli ali kokristale, saj tudi pri tvorbi soli ali solvata nastanejo edinstveni spektri. Potrebne so zmogljivejše metode.

Najbolj zaželena metoda za strukturno karakterizacijo in potrjevanje nastanka kokristalov je rentgenska difrakcija na monokristalu (angl. Single Crystal X-Ray Diffraction). S to metodo dobimo absolutno kristalno strukturo in s tem možnost, da razberemo razmerje molekul v kokristalu, prostorsko urejenost molekul ter vrsto in položaj interakcij v kokristalu. Pomanjkljivost te metode je, da potrebujemo kristale ustrezne velikosti in kvalitete. Kokristali, pridobljeni z mletjem, praviloma niso primerni za takšno analizo (14, 43, 63, 64, 65, 66).

Če imamo za določen kokristal na razpolago strukturne podatke pridobljene z rentgensko difrakcijo na monokristalu, lahko iz njih s pomočjo programa simuliramo difraktogram rentgenske praškovne difrakcije. Strukturne podatke dobimo iz monokristalov, ki jih sami pripravimo iz raztopine, ali pa jih dobimo iz podatovne baze CSD (Cambridge Structural Database). Difraktogram rentgenske praškovne difrakcije za kokristal, pripravljen z mletjem, nato primerjamo s simuliranim difraktogramom (40). To metodo so uporabili tudi Trask in sodelavci na primeru kokristala kofeina in glutarne kisline, ki so jih pridobili z mletjem z dodatkom topila. Če se difraktograma ujemata, lahko za vzorec, pripravljen z mletjem, potrdimo nastanek kokristala (43).

Po podobnem principu se je razvila tudi metoda strukturnega določanja iz XPRD. V zadnjih letih je razvoj v opremi za XPRD, računalniških programih in metodah dosegel takšen napredek, da lahko določimo kristalno strukturo iz podatkov praškovne rentgenske difrakcije (67). Raziskovalci so s pomočjo računalniških programov, kot so DASH, DICVOL04 in TOPAS, določili strukturo kokristala v enem dnevu, brez potrebe po monokristalu (68).

Močno analizo orodje predstavlja tudi jedrska magnetna resonanca v trdnem stanju (angl. Solid State Nuclear Magnetic Resonance - SSNMR), ki nedestruktivno analizira majhne

količine praškastih vzorcev. To prednost izkoriščamo pri analizi farmacevtskih kokristalov, pripravljenih z mehanokemijskimi tehnikami, ki ne dopuščajo analize na monokristalih. S to metodo lahko ovrednotimo kokristale in solvate. S pomočjo računskih pristopov lahko določimo tudi strukturo kokristala, saj se metoda dobro dopolnjuje z rentgensko praškovo difrakcijo. Ta metoda za karakterizacijo kokristalov se še ni popolnoma uveljavila, zato v literaturi najdemo omejeno število študij (63).

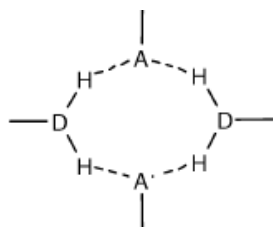
Tudi ko kokristali ustrezajo zahtevam za rentgensko difrakcijo, ne moremo vedno nedvoumno določiti položaja vodikovega atoma (ali pride do prenosa protona s kisline na bazo ali se to ne zgodi). Zato je za karakterizacijo potencialnih kokristalov najbolje uporabiti kombinacijo več različnih tehnik (XRPD, IR, SSNMR), ki ne zahtevajo priprave monokristalov (69).

1.5 AMINOKISLINE IN PEPTIDI V KOKRISTALIH

Vodikove vezi imajo pomembno vlogo v biokemiji, saj so zaradi svoje energije in usmerjenosti najpomembnejše intermolekularne in intramolekularne interakcije (70). Na osnovi predvidevanja mesta pojava vodikovih vezi se lahko lotimo načrtovanja kokristalov. Kandidate za kokristalizacijo lahko izbiramo na osnovi njihove sposobnosti za tvorbo specifičnih, z vodikovimi vezmi povezanih, sintonov (71).

1.5.1 AMINOKISLINE KOT GRADNIKI KOKRISTALOV

Wenger in sodelavci so se v svoji študiji osredotočili na raziskovanje možnosti tvorbe posebnega sintona, $R_4^2(8)$ sintona (slika 9), ki nastane s tvorbo vodikovih vezi med dvema molekulama, ena izmed teh je lahko aminokislina. Oznaka tega sintona se nanaša na število vodikovih vezi (4), število sodelujočih molekul (2) in število sodelujočih atomov (8). Ugotovili so, da lahko aminokislina s svojo amsko skupino v tem sintonu deluje kot donorji, molekule s karbonilno skupino pa kot akceptorji vodikovih vezi.



Slika 9. $R_4^2(8)$ sinton, v katerem lahko aminokislina deluje kot donor vodikovih vezi (71).

Za akceptorja vodikove vezi so izbrali oksalno kislino. S pomočjo CSD so ugotovili, da je oksalna kislina sposobna tvoriti izbran sinton z 58 spojinami. Na osnovi te ugotovitve so se

odločili, da bodo izbran sinton poskusili tvoriti s pomočjo aminokislin. Za skupino aminokislin so se odločili, ker:

- 1) sta aminska in karbonilna skupina donor in akceptor z veliko sposobnostjo tvorbe R_4^2 (8) sintona,
- 2) je z variiranjem pH-ja mogoče nadzorovati stopnjo ionizacije spojin,
- 3) aminokislina izkazuje potencialno farmacevtsko uporabnost.

Kot testni aminokislini so izbrali glutamin in asparagin (obe v stranski verigi vsebujeta amidno skupino). Z navedenima aminokislinama jim ni uspelo izdelati kokristalov; po naključju pa sta nastala nova seskvihidrata oksalne kisline (71).

Kinsel in sodelavci so raziskovali obstoj zwitter ionov aminokislin v plinski fazi. V raztopini lahko vse aminokislina obstajajo v obliki zwitter ionov, kar je povezano s solvatacijskimi efekti, ki stabilizirajo NH_3^+ in COO^- skupini zwitter ionov. Ugotovili so, da lahko arginin tudi v plinski fazi tvori zwitter ione. Sicer je ena sama molekula v normalni obliki, medtem ko sta dimer in trimer v plinski fazi v obliki zwitter iona.

Za naslednje raziskave so se odločili zaradi preučevanja analitske metode MALDI (angl. matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry), pri kateri se analit prekrije z ogrođjem in nato pretvori v plinsko fazo. Kot matriks se pri MALDI uporablja 2,5-dihidroksi benzojska kislina (DHB).

V raziskavi so s kristalizacijo iz zmesi topil voda/acetoni-tril naredili kokristale med DHB in argininom. Za natančno določitev strukture kokristala so uporabili rentgensko difrakcijo na monokristalu. Ugotovili so, da se arginin v kokristalu, torej v trdni fazi, nahaja v zwitter ionski obliki. V kokristalu se nahaja tudi molekula vode, ki služi kot most med 1 molekulo DHB in 2 molekulama arginina. Molekula arginina tvori interakcije preko gvanidinijeve skupine, medtem ko molekula DHB vstopa v interakcije preko disociirane karboksilne skupine (70).

Naslednja aminokislina, ki se pojavlja v člankih na temo kokristalov, je prolin. L-prolin je dober tvorec kokristalov, saj lahko tvori tako ionske kot tudi vodikove vezi. Poleg tega je prolin tudi ena od naravnih α -aminokislin, ki sestavljajo proteine (72).

Timofeeva in sodelavci so preučevali dve spojini: 1,1-diciano-2-(4-hidroksifenil)-eten (I) in 1,1-diciano-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-eten (II). V poskusu kristalizacije teh dveh spojin z L-prolinom(III) in L-tartarno kislino (IV), je v primeru spojin I in III prišlo do nastanka kokristala, medtem ko spojina II ni tvorila kokristalov. V prisotnosti spojin III in IV je pri L-tartarni kislino prišlo do tvorbe polimorfov IIa in IIb. Kot metodo izdelave so

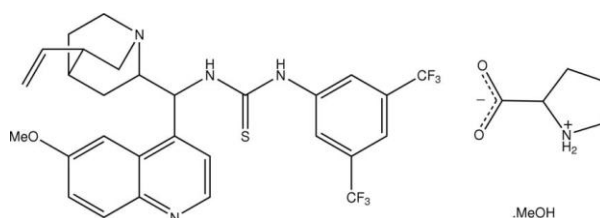
uporabili kristalizacijo iz zmesi topil acetonitril/etanol. S pomočjo rentgenske difrakcije na monokristalu so prišli do podatkov o strukturi kokristala I : III, ki je sestavljen iz dveh molekul spojine I in dveh molekul spojine III (73).

V primeru kokristalizacije med L-prolinom in $MnCl_2$ je nastal multimolekularni kompleks. Multimolekularni kompleks je pojem, ki vključuje hidratirano sol in kokristale. Z metodo sejanja kokristalov jim je uspelo narediti monokristal. Pri tem so uporabili s suhim mletjem pridobljen praškasti produkt. Kokristalizacija je potekala s počasnim odparevanjem iz etanolne raztopine.

Produkt so ovrednotili z rentgensko praškovno difrakcijo in rentgensko difrakcijo na monokristalu ter z diferenčno dinamično kalorimetrijo. Z DSC analizo so ugotovili, da se temperatura tališča kompleksa zviša nad temperaturo tališča posameznih komponent (L-prolina in $MnCl_2 \cdot 4H_2O$), medtem ko je temperatura tališča $MnCl_2$ še višja od temperature tališča kompleksa (72).

Aminokislina L-prolin je omenjena tudi v patentu, ki opisuje kokristal med L-prolinom in (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotien-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitolom. L-prolin je tvorec kokristala. (1S)-1,5-anhidro-1-[3-(1-benzotien-2-ilmetil)-4-fluorofenil]-D-glucitolom pa je zdravilna učinkovina, inhibitor Na-glukoznega kotransporta, ki se uporablja za zdravljenje sladkorne bolezni. Kokristal so izdelali s kristalizacijo iz etanola. Produkt ima izboljšane lastnosti kot so konstantna kakovost, stabilnost pri sobnih pogojih, ne absorbira vlage (74).

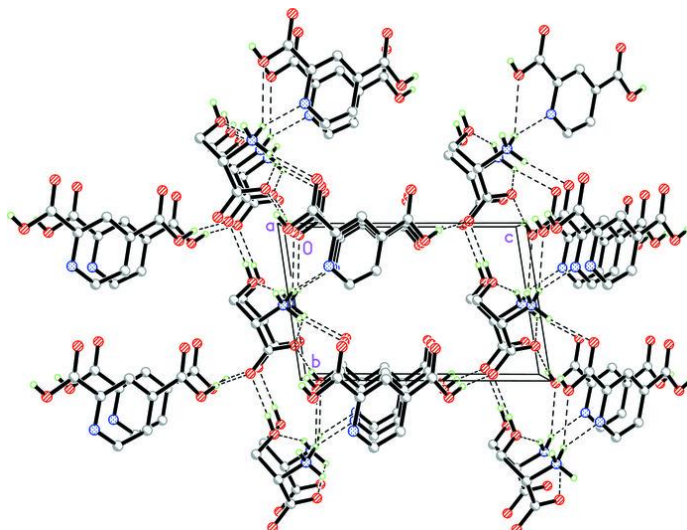
Muramulla in sodelavci so s kristalizacijo iz metanola izdelali kokristal med 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-3-[(5-etenil-1-azabicyklo[2.2.2]oktan-2-il)(6-metoksikinolin-4-il)metil]tiureo, L-prolinom (v obliki zwitter iona) in metanolom, ki je shematsko prikazan na sliki 10 (75).



Slika 10. Kokristal med 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-3-[(5-etenil-1-azabicyklo[2.2.2]oktan-2-il)(6-metoksikinolin-4-il)metil]tiureo, L-prolinom in metanolom (75).

Aminokislini, ki se tudi pojavljata v člankih na temo kokristalov, sta serin in fenilalanin. S kristalizacijo iz zmesi topil etanol/voda so izdelali kokristal med piridin-2,4-dikarboksilno kislino in serinom (v obliki zwitter iona). Kokristal je stabiliziran z intermolekularnimi

vodikovimi vezmi (slika 11) (76). Elbagerma in sodelavci so s kristalizacijo iz etanola izdelali kokristal med salicilno kislino in DL-fenilalaninom (77).



Slika 11. Struktura kokristala med piridin-2,4-dikarboksilno kislino in serinom (v obliki zwitter iona). Vodikove vezi so nakazane s črtkano črto (76).

1.5.2 DI- IN TRIPEPTIDI KOT GRADNIKI KOKRISTALOV

Nizkomolekularni hidrofobni peptidi so zaradi svoje netoksičnosti, biokompatibilnosti in ekološke sprejemljivosti in tudi zaradi svoje strukturne fleksibilnosti ter afinitete do tako hidrofilnih (H-vezi) kot hidrofobnih (Van der Waalsove vezi) intermolekularnih interakcij, zelo privlačne komponente za tvorbo kokristalov (78).

V preglednici II so navedeni primeri inkluzijskih (vključitvenih) kompleksov med dipeptidi in gostujočimi molekulami. V inkluzijskih kompleksih tvorijo dipeptidi večplastno strukturo, v prostorih med plastmi pa se nahajajo gostujoče molekule. Inkluzijske komplekse nekateri raziskovalci uvrščajo med kokristale, saj se v strukturi pojavljajo intermolekularne vodikove vezi; po ožji definiciji pa inkluzijski kompleksi ne spadajo med kokristale, saj je ena komponenta v obliki tekočine oz. topila (79).

Preglednica II. Primeri inkluzijskih kompleksov med dipeptidi in gostujočimi molekulami (79).

dipeptid	gost
LA (L-leucil-L-alanin)	dimetil-, benzil metil- in izobutil metil- sulfoksid
arilglicil-arilglicin	različni
LL (L-leucil-L-leucin)	dimetil sulfoksid
	alkoholi (etanol, propanol, izobutanol)

Cilj raziskav Burchella in sodelavcev je bil uporabiti naslednji leucinov oligomer (LLL: L-leucil-L-leucil-L-leucin) in pripraviti kokristale. Znan je bil že solvat $(LLL)_2 \cdot 3(CH_3OH) \cdot (H_2O)$. V tej študiji so hoteli za tvorbo kokristala uporabiti aromatska

topila, odločili so se za piridin in pikoline (metil piridin). Kokristale so izdelali s kristalizacijo iz zmesi topil vode in piridina ali pikolina.

Strukture, ki so nastale, so karakterizirali z rentgensko difrakcijo na monokristalu in s termogravimetrično analizo (preglednica III).

Preglednica III. Razmerja komponent v kokristalih, pridobljenih s kristalizacijo LLL iz zmesi vode in piridina ali pikolina, določena z rentgensko difrakcijo na monokristalu in s termogravimetrično analizo (78).

Tvorec kokristala	Piridin (Py)	2-metil piridin (2-MePy)	3-metil piridin (3-MePy)	4-metil piridin (4-MePy)
Razmerje določeno z rentgensko difrakcijo na monokristalu	LLL*(Py)	LLL*(2-MePy)*0,12(H ₂ O)	LLL*(3-MePy)	LLL*(4-MePy)*0,14(H ₂ O)
Razmerje določeno s termogravimetrično analizo (TGA)	LLL*1,04(Py)	LLL*0,99(2-MePy)	LLL*0,96(3-MePy)	LLL*0,92(4-MePy)

Strukture, ki so nastale, lahko opišemo kot inkluzijske strukture, v katerih je LLL gostitelj, piridin ali pikolin gost, voda je drugi gost. LLL so organizirane v anti-paralelne β -površine, ki se med seboj povezujejo z Van der Waalsovimi vezmi. Gostujoče molekule se nahajajo med temi plastmi in tvorijo vodikove vezi z NH₃ skupinami gostitelja (78).

Ista ekipa raziskovalcev se je ukvarjala tudi z dipeptidom L-alanil-L-valin (AV). AV je hidrofobni dipeptid, ki je sposoben tvoriti kokristale z drugimi molekulami, in sicer preko procesa kokristalizacije ali/in preko inkluzijskih procesov. V tem primeru je dipeptid AV tvoril kokristal z L-alaninom (A), nastal je kokristal AV : A : (H₂O). Dipeptidi imajo ugodne lastnosti, kot so vodotopnost, netoksičnost, razgradljivost.

Molekule dipeptida AV lahko tvorijo različne strukture (molekule dipeptida so med seboj povezane z vodikovimi vezmi):

- 1) poznana je struktura tunela, ki lahko vključuje le majhne molekule, npr. izopropanol,
- 2) v prisotnosti velikih molekul lahko pride do kristalizacije »praznih« tunelov.

Cilj raziskovalcev je bil preučiti sposobnost srednje velikih molekul za kokristalizacijo z dipeptidom; predvidevali so nastanek nove, še neznane, kristalne oblike.

Priprava kokristalov AV : A : (H₂O) je potekala iz izhodnega dipeptida AV in kot srednjo veliko molekulo so uporabili L-alanin. Metoda priprave je bila kristalizacija iz vode. V končnem produktu so se pojavile različne strukture: dolge tanke igle AV, plošče A in v majhni količini prizme kokristala AV : A : (H₂O).

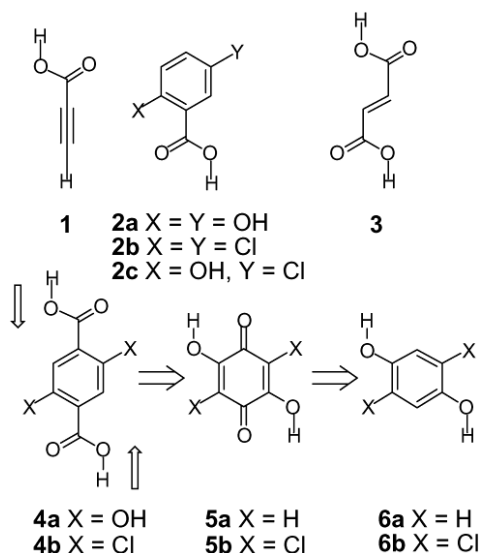
Rezultat raziskave je bil, da lahko v prisotnosti večjih molekul (npr. L-alanina) nastane druga (poleg že prej poznane strukture tunela, kristalna oblika dipeptida AV, β površina). V primeru, da so uporabili D- ali D/L-alanin, do nastanka kokristalov ni prišlo. Iz tega so

sklepali, da bi se lahko nova kristalna oblika, β površina, uporabljala za kiralno separacijo tako, da bi v svojo strukturo vključila le en enantiomer praktično pomembne optično aktivne snovi (79).

Peptidni kiralni selektorji imajo pred ostalimi že uveljavljenimi kiralnimi selektorji (ciklodekstrini, makrocikličnimi antibiotiki, polisaharidnimi derivati,...) nekatere prednosti: 1.) so strukturno različni in enostavni za sintezo in modifikacije, 2.) so robustni in vsestranski, tako se lahko uporabljajo pritrjeni na trdno podporo ali so dodani mobilni fazi (80).

Ohyama in sodelavci so preučevali peptidne kiralne selektorje, ki bi se lahko pri tekočinski kromatografiji uporabljali kot osnova kiralne stacionarne faze. Ločevali so enantiomerno zmes R/S-varfarina in kot stacionarno fazo so uporabljali poli(L-fenilalanin) različnih dolžnih. Vezi, ki se pojavljajo med stacionarno fazo in varfarinom, so kombinacija hidrofobnih interakcij, π - π interakcij in vodikovih vezi (81). V nadaljevanju so raziskovalci preiskovali sposobnost drugih peptidov za kiralno separacijo (poli(L-fenilglicin), poli(L-valin), poli(L-prolin)) (82).

Cilj študije Luo-a in sodelavcev je bil določiti nekovalentne interakcije, ki se pojavijo med cikličnim dipeptidom glicina (gostitelj) in karboksilno kislino (gost) (slika 12). Na osnovi 11 preiskanih kokristalov med cikličnim dipeptidom glicina in karboksilnimi kisljinami, so prišli do ugotovitve, da se bo karboksilna kislina kot gost vključila v strukturo, če bodo izpolnjeni naslednji kriteriji: 1) velikost gostujoče molekule med 4,5 in 8,5 Å, 2) med gostujočimi molekulami morajo biti močnejše interakcije od Van der Waalsovih, 3) razdalja med donorji vodikovih vezi (hidroksilna skupina oz. kisikov atom) in akceptorji vodikovih vezi (karbonilna skupina oz. ogljikov atom) ne sme biti večja kot dve vezi, 4) moč interakcij med molekulami v kokristalu mora biti v naslednjem vrstnem redu: gostitelj-gostitelj > gostitelj-gost > gost-gost (83).



Slika 12. Strukture preiskovanih spojin, ki tvorijo kokristale s cikličnim dipeptidom glicina (83).

1.6 PREGLED PATENTNE ZAŠČITE UČINKOVIN V OBLIKI KOKRISTALOV

V bazi podatkov o patentih, ki je prosto dostopna na spletu (Free patents online), dobimo kot rezultat iskanja z uporabo ključnih besed »ABST/(co-crystal OR cocrystal) AND drug« čez 200 zadetkov (tako za patentne prijave kot že podeljene patente).

Natančen pregled patentne literature s področja kokristalov je podan v prilogi diplomskega dela kot preglednica VIII. Ugotovimo lahko, da se z izdelavo farmacevtskih kokristalov spremenijo naslednje lastnosti zdravilnih učinkovin: tališče, topnost, hitrost raztapljanja, biološka uporabnost, stabilnost, farmakološke lastnosti, higroskopnost, morfologija delcev in pretočne lastnosti.

1.7 KARVEDILOL

1.7.1 DELOVANJE IN UPORABA

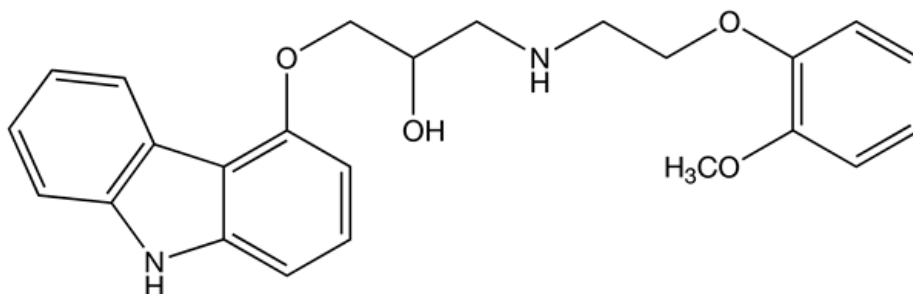
Karvedilol je zaviralec adrenergičnih receptorjev alfa in beta: neselektivno inhibira β -adrenergične receptorje ter selektivno α_1 -adrenergične receptorje. Ima vazodilatacijski učinek (širi žile in s tem zniža tlak). Ima tudi antioksidativne in antiproliferacijske lastnosti. Kemijsko gledano je ariloksiopropanolamin ter racemna zmes R (+) ter S (-) enantiomerov; enantiomera se razlikujeta po učinkih in po presnovi. Enantiomer S (-) zavira adrenergične receptorje α_1 in β , enantiomer R (+) pa zavira le receptorje α_1 .

Karvedilol se po zaužitju hitro in skoraj v celoti absorbira. V plazmi se skoraj v celoti veže na beljakovine. Biološko uporabne je le približno 30 % zaužite količine karvedilola, saj se zelo hitro presnavlja že pri prvem prehodu skozi jetra (predvsem s pomočjo jetrnih encimov CYP2D6 in CYP2C9). Pri tem nastanejo tudi trije aktivni presnovki, ki zavirajo adrenergične receptorje beta. Razpolovni čas izločanja je različen: 5 do 9 ur za R (+) enantiomer in 7 do 11 ur za S (-) enantiomer. Priporočeni največji dnevni odmerek učinkovine je 2 x 25 mg; za bolnike težje od 85 kg, se lahko odmerek poveča na 2 x 50 mg. Karvedilol se uporablja pri zdravljenju arterijske hipertenzije, angine pektoris, srčnega popuščanja in pri zdravljenju po akutnem miokardnem infarktu z disfunkcijo levega prekata (84).

1.7.2 OSNOVNI PODATKI

IUPAC poimenovanje: 1-(karbazol-4-iloksi)-3-[[2-(2-metoksifenoksi)etil]amino]-2-propanol

Strukturna formula:



Molekulska formula: C₂₄H₂₆N₂O₄

Molekulska masa: 406,48 g/mol

1.7.3 POLIMORFNE MODIFIKACIJE KARVEDILOLA

Poznane so različne polimorfne modifikacije karvedilola. Oblika I in oblika II sta opisani kot monotropni. Termodinamsko stabilnejša je oblika I (85, 86, 87).

Poleg tega lahko karvedilol tvori solvate, hidrate in se nahaja v amorfni obliki (preglednica IV).

Preglednica IV. Polimorfne modifikacije karvedilola.

oblika	temperatura tališča	literaturni vir	metoda izdelave (večinoma kristalizacija iz topila)
oblika II	114-115°C	EP0893440A1	<ul style="list-style-type: none"> • MeOH (nastane oblika I) → oblika II nastane z dodatno rekristalizacijo v izopropanolu • etil acetat
		WO/2002/000216 (ta topila le našteta, niso med primeri)	<ul style="list-style-type: none"> • MeOH • EtOH • 1-propranol • izopropanol • n-butanol • etilenglikol • butil acetat • izobutil metil keton • diklorometan • dikloroetan • acetonitril • aceton • izoamilalkohol • ksilen • toluen • aceton/cikloheksan • kloroform/cikloheksan • diklorometan/cikloheksan • piridin/cikloheksan • THF/cikloheksan • dioksan/cikloheksan • aceton/heksan • kloroform/heksan • dikloroetan/heksan • diklorometan/heksan • THF/heksan • EtOH/heksan
oblika I	123-126°C	EP0893440A1	<ul style="list-style-type: none"> • MeOH • etil acetat

oblika III	100°C (96-110°C)	WO/2002/000216 (slika 2)	<ul style="list-style-type: none"> • oblika II se vmeša v vodo → suspenzija se ogreje → 2-3 dni traja pretvorba v obliko III • EtOH/voda • MeOH/voda • piridin/voda • dioksan/voda • heksan/voda VODA: Poteka kristalizacija iz vode (1. alineja) ali pa se pojavlja voda kot protitopilo (ostale alineje).
	92-95°C (temp. tališča oblike III), nato rekristalizacija pri 105°C, 114°C (temp. tališča oblike II)	EP1406614B1 (slika 7)	<ul style="list-style-type: none"> • mletje z dodatkom topila (1. nastanek suspenzije: oblika II + Pluronic®F 127, 2. mletje, 3. mešanje s HEC/PVP raztopino, 4. sušenje z razprševanjem – spray drying) • oblika II se vmeša v vodo → suspenzija se ogreje → 2-3 dni traja pretvorba v obliko III
oblika IV	104°C	WO/2002/000216 (slika 4)	<ul style="list-style-type: none"> • metil etil keton, dodatek cikloheksana
oblika V (kristalinični karvedilol (metil etil keton) solvat)	67°C (rekristalizacija), 115°C (tališče)	WO/2002/000216 (slika 6)	<ul style="list-style-type: none"> • metil etil keton
karvedilolov klorid hidrat	118°C (dehidracija), 135°C (tališče)	WO/2002/000216	
karvedilol hemihidrat	94-96°C	WO/2003/029214A1	<ul style="list-style-type: none"> • sušenje z razprševanjem (spray congealing): oblika II + PLURONIC F68 + MACROGOL6000 • voda • voda/MeOH
karvedilol solvat VI	74°C (glavni vrh) in 112°C (manjši vrh)	WO/2003/059807A2 (slika 3)	<ul style="list-style-type: none"> • etil acetat (sejanje z obliko II) – nastanek oblike VI • če sušenje: pretvorba, dobimo obliko II in VI • po 4 tednih na sobni temp.: dobimo oblike I, II, VI
oblika VII	68,8-72,4°C ALI 73°C (polimorfna modifikacija v obliko II) in 114°C (temperatura tališča oblike II)	WO/2005/021504 (slika 2)	<ul style="list-style-type: none"> • etil acetat/voda
oblika IX (tudi modifikacija oblike IX v obliki hemihidrata (izgubi vodo nad 60°C))	94,5-96,2 ALI 80° (manjši vrh) in 99°C (95°C) (večji vrh)	WO/2005/021504 (slika 5)	<ul style="list-style-type: none"> • etil acetat/voda

Poleg navedenih obstajajo še druge oblike, predvsem solvati (npr. karvedilol etil acetat solvat, karvedilol dihidrogen metanol solvat), hidrati (npr. karvedilol dihidrogenfosfat dihidrat), in poleg kristaliničnih oblik karvedilola je poznana tudi amorfna oblika učinkovine kot tudi amorfna oblika soli učinkovine (npr. amorfna oblika fosfatne soli).

2 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je priprava kokristalov v vodi težko topne učinkovine, karvedilola, s farmacevtsko sprejemljivimi pomožnimi snovmi. Z mletjem karvedilola in potencialnih tvorcev kokristalov v določenem stehiometrijskem razmerju bomo izdelali vzorce za rešetanje kokristalov. Mletje ponuja številne prednosti v primerjavi z ostalimi metodami in velja za metodo prvega izbora pri rešetanju kokristalov. Priprava kokristalov z mletjem je časovno hitra, pogoje izdelave lahko dobro nadzorujemo, pri mletju potrebujemo nič ali zelo malo topila.

Preverili bomo, ali aminokislina tvori kokristale s karvedilolom. Izbrali smo 11 aminokislin, s katerimi bomo pripravljali vzorce za rešetanje kokristalov. Pogosto uporabljeni tvorca kokristalov so karboksilne kisline, predvsem skupina dikarboksilnih kislin. Redkeje se kot tvorca kokristalov pojavljajo tudi aminokislina. Aminokislina so primerne kot tvorca kokristalov, saj so sposobne tvoriti vodikove vezi, ki so zaradi svoje velike energije in usmerjenosti najpomembnejše intermolekularne interakcije.

Vzorce bomo mleli brez topila in z dodatkom majhnih količin različnih topil. Za primerjavo pri vrednotenju bomo pripravili tudi fizikalne zmesi vseh kombinacij karvedilola s pomožnimi snovmi.

Vse izdelane zmesi bomo analizirali z metodo diferenčne dinamične kalorimetrije (DSC). Metoda DSC je hitra, enostavna in učinkovita pri rešetanju in odkrivanju novih kokristalov, vendar z njo ne moremo potrditi nastanka nove kristalne oblike, saj pozitivne odzive dajejo tudi evtektične zmesi in soli. Tudi polimorfne modifikacije učinkovine imajo spremenjeno temperaturo tališča. Produkta mletja, pri katerih bomo iz rezultata DSC sklepali na nastanek kokristala, bomo nato ovrednotili še z metodo rentgenske praškovne difrakcije.

Ker nas zanima tudi vpliv samih topil na mletje učinkovine, bomo mleli karvedilol z dodatkom topil in brez pomožnih snovi.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali naslednje spojine (preglednica V):

- karvedilol (Krka, Slovenija)
- alanin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- arginin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- asparagin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- cistin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- fenilalanin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- glutaminska kislina (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- prolin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- serin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- tirozin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- treonin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)
- valin (Sigma Aldrich Chemie, Nemčija)

topila:

- aceton (Merck, Nemčija)
- etanol (Merck, Nemčija)
- prečiščena voda
- tetrahidrofuran (Merck, Nemčija)

ter laboratorijski pribor:

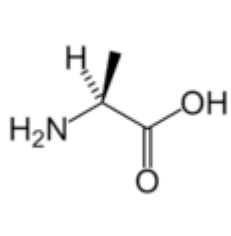
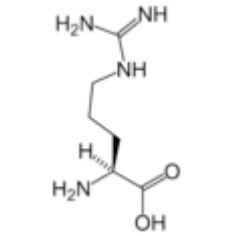
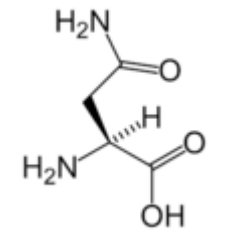
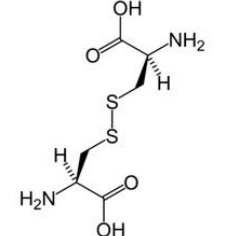
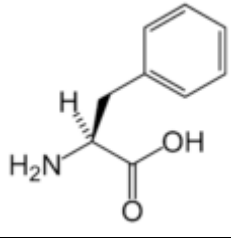
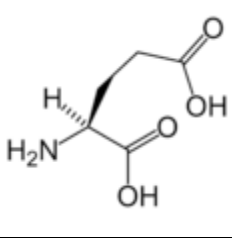
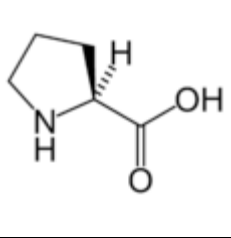
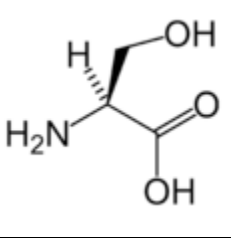

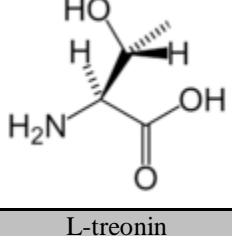
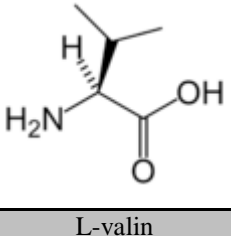
- steklovina (čaše, merilni valji, epruvete, erlenmajerice)
- pipete
- 70% EtOH v pršilki
- patene, spatule, steklene palčke
- škarje, ura.

Pri eksperimentalnem delu smo uporabili naslednje aparature:

- Tehnica A&D Instruments LTD, GH-300-EC, Italija
- Analizna tehtnica Mettler Toledo AG 245, Švica
- Vibracijski mlin Pulverisette 0, Fritsch, Nemčija

- Diferenčni dinamični kalorimeter Mettler Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo STAR^c Software v9.30, Švica
- Difraktometer Philips X`Pert Pro MPD

Preglednica V. Strukturne formule in poimenovanja potencialnih tvorcev kristalov.

			
L-alanin	L-arginin	L-asparagin	L-cistin
			
L-fenilalanin	L-glutaminska kislina	L-prolin	L-serin
			
L-tirozin	L-treonin	L-valin	

3.2 METODE

Ocena nasičene topnosti

Ocenili smo nasičeno topnost aminokislin v različnih topilih (etanolu, acetonu in tetrahidrofuranu). V nekaj ml medija smo po korakih približno 5 mg dodajali aminokislino. Suspenzijo smo najprej mešali s stekleno palčko in jo po potrebi dali še v ultrazvočno kadičko za približno 10 minut.

Mletje

Zmesi praškov (karvedilol v zmesi s potencialnim tvorcem kokristala) smo mleli s pomočjo vibracijskega mlina Pulverisette 0 proizvajalca Fritsch (Idar-Oberstein, Nemčija) na Fakulteti za farmacijo (slika 13). V možnar smo nasuli zatehtane količine učinkovine in pomožne snovi v določenem stehiometrijskem razmerju v skupni masi 400 mg. Najprej smo vzorce pripravljali z mletjem brez dodatka topila, nato pa še z dodatkom majhnih volumnov različnih topil. Vsak vzorec smo mleli 30 minut oziroma ob dodatku ali brez 100 μ L topila.

V prvi fazi smo za preučevanje interakcij med karvedilolom in pomožnimi snovmi z mletjem pripravili vzorce, ki so predstavljeni v preglednici VI.

Preglednica VI. Pregled pripravljenih vzorcev za preučevanje interakcij med karvedilolom in pomožnimi snovmi.

pripravljene vzorci
• aminokislina nemleta
• aminokislina mleta
• fizikalna zmes (1:1)*
• mletje brez topila (1:1)*
• mletje s topilom (1:1)* <ul style="list-style-type: none"> ▪ mletje z etanolom (100 μL topila) ▪ mletje z acetonom (100 μL topila) ▪ mletje s THF (100 μL topila) ▪ mletje z vodo (100 μL topila)

*1:1 je stehiometrijsko razmerje med karvedilolom in tvorcem kokristala - aminokislino.

Pri daljšem mletju smo po vsakih 30 minutah spet dodali 100 μ L topila.

Same potencialne tvorce kokristalov smo mleli posamično v količini 200 mg 30 minut.

Vibracijski mlin melje vzorec s trenjem, drgnjenjem in zadevanjem krogle ob vzorec v možnarju. Možnar vibrira s pomočjo elektromotorja, vibracije pa se prenesejo s krogle na mleti material in obratno. Najprej je manjšanje grobih delcev posledica udarcev krogle ob delce, kasneje pa se drobni delci meljejo z drgnjenjem materiala med kroglo in dnom

možnarja. Ker se material nenehno poseda zaradi vibracij, se tudi dobro premeša. Energijo udarca krogle lahko poljubno nastavljam, posledično lahko precizno prilagajamo pogoje mletja.



Slika 13. Vibracijski mlin Pulverisette 0 Fritsch.

Priprava fizikalnih zmesi

Fizikalne zmesi smo pripravili tako, da smo zatehtali količini obeh komponent v določenem stehiometrijskem razmerju v skupni masi 200 mg in ju z rahlim krožnim gibanjem s spatulo mešali v pateni 15 minut.

Rentgenska praškovna difrakcija

Praškovni difraktogrami so bili posneti z difraktometrom Philips X`Pert Pro MPD. Območje snemanja je znašalo $3 - 31^\circ$, 2θ . Integracijski čas je znašal 100 sekund, korak pa $0,033^\circ$. Meritve so bile opravljene v podjetju Krka, d.d., Novo mesto, na Oddelku za strukturne raziskave.

Termična analiza

DSC krivulje so bile posnete z instrumentom Differential Scanning Calorimeter DSC1 proizvajalca Mettler-Toledo (Švica), opremljenim s programsko opremo STARe Software v9.30. na Fakulteti za farmacijo, Univerze v Ljubljani. Meritve so bile izvedene v dušikovi atmosferi (pretok dušika je znašal 40 ml/min). Hitrost segrevanja je znašala 3 K/min.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 OCENA TOPNOSTI AMINOKISLIN V TOPILIH ZA MLETJE

Ocenili smo, da so vse preučevane aminokisliline v etanolu, acetonu in THF skoraj netopne. Nekoliko je izstopala topnost L-prolina v etanolu, ki je glede na klasifikacijo iz Formularium Slovenicuma zelo težko topen v etanolu.

Topnost aminokislin v vodi je naslednja (88):

prolin.....	zelo lahko topna
alanin, arginin, treonin.....	lahko topna
asparagin, serin, valin.....	topna
fenilalanin.....	zmerno topna
glutaminska kislina.....	težko topna
tirozin.....	zelo težko topna
cistin.....	skoraj netopna

Karvedilol je po evropski farmakopeji skoraj netopen v vodi in težko topen v etanolu. Že s predhodno opravljenimi študijami so ugotovili, da je karvedilol topen v acetonu in lahko topen v THF (89).

Po teoriji je za nastanek kokristala željeno, da topilo topi eno od komponent ali pa delno topi obe komponenti. S stališča topnosti bi kokristali karvedilola z aminokislinami v vseh primerih lahko nastali, saj je karvedilol v vseh uporabljenih topilih relativno dobro topen, večina aminokislin pa se delno raztaplja vsaj v vodi.

4.2 MLETJE KARVEDILOLA S POTENCIALNIMI TVORCI KOKRISTALOV

Namen rešetanja kokristalov je bil najti pomožne snovi, ki dajo kristalno obliko s spremenjenimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi v primerjavi z lastnostmi karvedilola. Kot potencialne tvorce kokristalov smo uporabili aminokisliline. Izbrali smo 11 aminokislin, s katerimi smo pripravljali vzorce za rešetanje kokristalov.

Z vsakim potencialnim tvorcem kokristala smo pripravili več vzorcev. V prvi fazi smo za preučevanje interakcij med karvedilolom in pomožnimi snovmi z mletjem pripravili vzorce, ki so predstavljeni v preglednici VI.

V primeru, ko je bila v DSC krivulji zaznana sprememba, poleg tega pa sta vrhova taljenja karvedilola oziroma potencialnega tvorca kokristala še vedno bila prisotna, smo pripravili

vzorke za mletje v spremenjenem stehiometrijskem razmerju. Takrat smo tudi spreminjali količino dodanega topila, ki katalizira reakcijo. Topila smo dodajali v korakih po 100 μL in med vsakim korakom zmes v možnarju mleli 30 minut. Na ta način smo zmesi dodali 200, 300 oziroma 400 μL topila. Vzorce smo nato termično analizirali. V primeru sprememb termičnih lastnosti zmesi glede na čisti karvedilol smo vzorec analizirali še z rentgensko praškovno difrakcijo.

4.3 PREGLED REZULTATOV OPRAVLJENEGA REŠETANJA Z METODAMA DSC IN XRPD

Preglednica VII podaja pregled uporabljenih potencialnih tvorcev kokristalov za reševanje z metodo mletja s karvedilolom ter prikaz zaznanih interakcij z DSC ter XRPD analizami. Prikazane so tudi spremembe, do katerih je prišlo pri mletju.

Preglednica VII. Pregled uporabljenih potencialnih tvorcev kokristalov za reševanje z metodo mletja s karvedilolom s prikazom zaznanih interakcij z DSC in XRPD analizami ter sprememb v strukturi.

potencialni tvorec kokristala	zaznane spremembe v mletji zmesi karvedilola in pomožne snovi		sprememba
	DSC	XRPD	
cistin	+	+	popoln prehod v obliko I
serin	+	+	popoln prehod v obliko I
tirozin	+	+	popoln prehod v obliko I
valin	+	+	prehod v zmes oblik I in III
alanin	+	+	prehod v zmes oblik II in I
arginin	+	+	prehod v zmes oblik II in I
asparagin	+	+	prehod v zmes oblik II in I
fenilalanin	+	+	prehod v zmes oblik II in I
treonin	+	+	prehod v zmes oblik II in I
prolin	+	-	ni interakcij
glutaminska kislina	-	/	ni interakcij

+ zaznamo interakcije med komponentama

- interakcije niso zaznane

/ XRPD analize nismo izvajali

V primeru uporabe aminokislin kot potencialnih tvorcev kokristalov smo v DSC krivulji opazili spremembo tališča, nadaljnja XRPD pa nam je pokazala, da je prišlo do spremembe polimorfne modifikacije karvedilola.

V nadaljevanju so predstavljeni rezultati mletih zmesi, kjer smo s termično analizo zaznali interakcije med komponentama v mleti zmesi. Pri teh vzorcih smo izvedli dodatne analize (XRPD) in poskusili razložiti, do kakšnih interakcij je prišlo.

4.4 MLETJE KARVEDILOLA Z AMINOKISLINAMI KOT POTENCIALNIMI TVORCI KOKRISTALOV

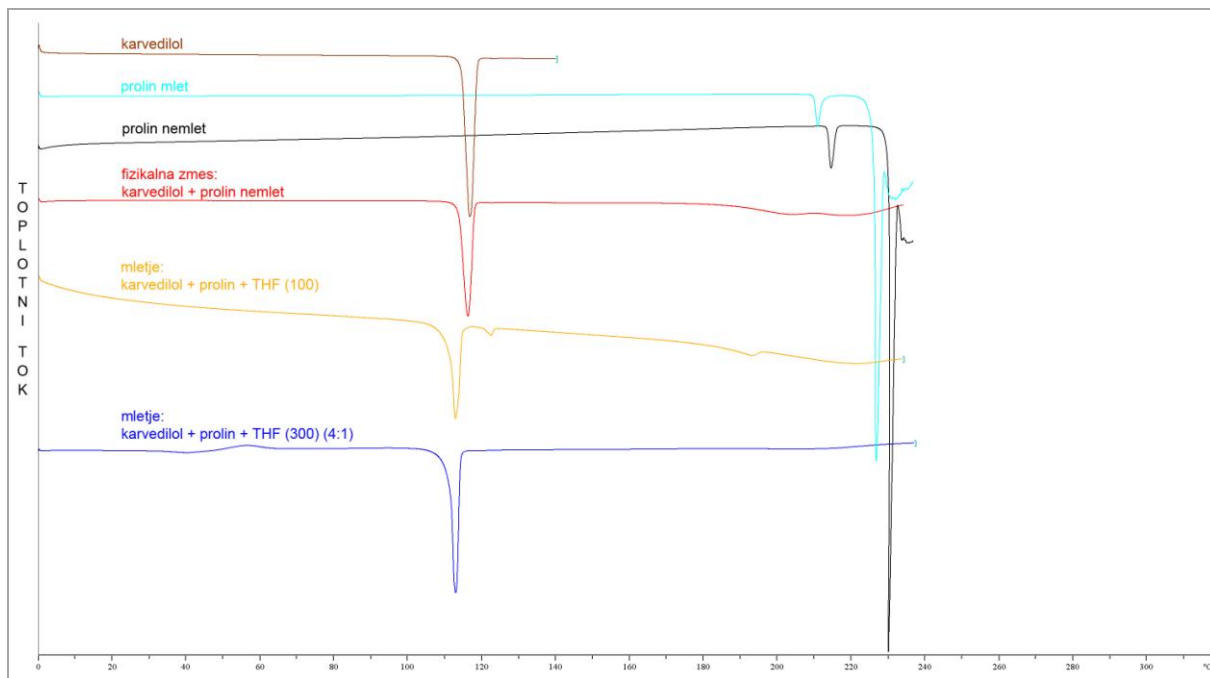
Pri vzorcih, ki smo jih pripravili z mletjem karvedilola (kristalna oblika II) in aminokislin kot pomožnih snovi z dodatkom etanola, smo v DSC krivuljah zaznali dodatne endotermne in eksotermne signale. Večkrat smo opazili, da se je pojavil endotermni signal pri 120°C. Ta se je še povečeval, ko smo povečali količino topila in s tem čas mletja. Sklepali smo, da gre za nastanek nove kristalne strukture, ki vsebuje karvedilol in pomožno snov. XRPD analiza je pokazala, da do nastanka kokristala ni prišlo. Ugotovili pa smo, da je prišlo do spremembe v kristalnih strukturi karvedilola. Hkrati smo opazili, da lahko z uporabo različnih pomožnih snovi, spreminjanjem volumna dodanega topila pri mletju ter z dolžino mletja vplivamo na to, katera kristalna oblika karvedilola bo nastala.

V nadaljevanju bomo v posameznih podpoglavjih opisali zaznane spremembe pri mletju karvedilola (kristalne oblike II) in aminokislin.

4.4.1 AMINOKISLINE, PRI KATERIH NI PRIŠLO DO INTERAKCIJ

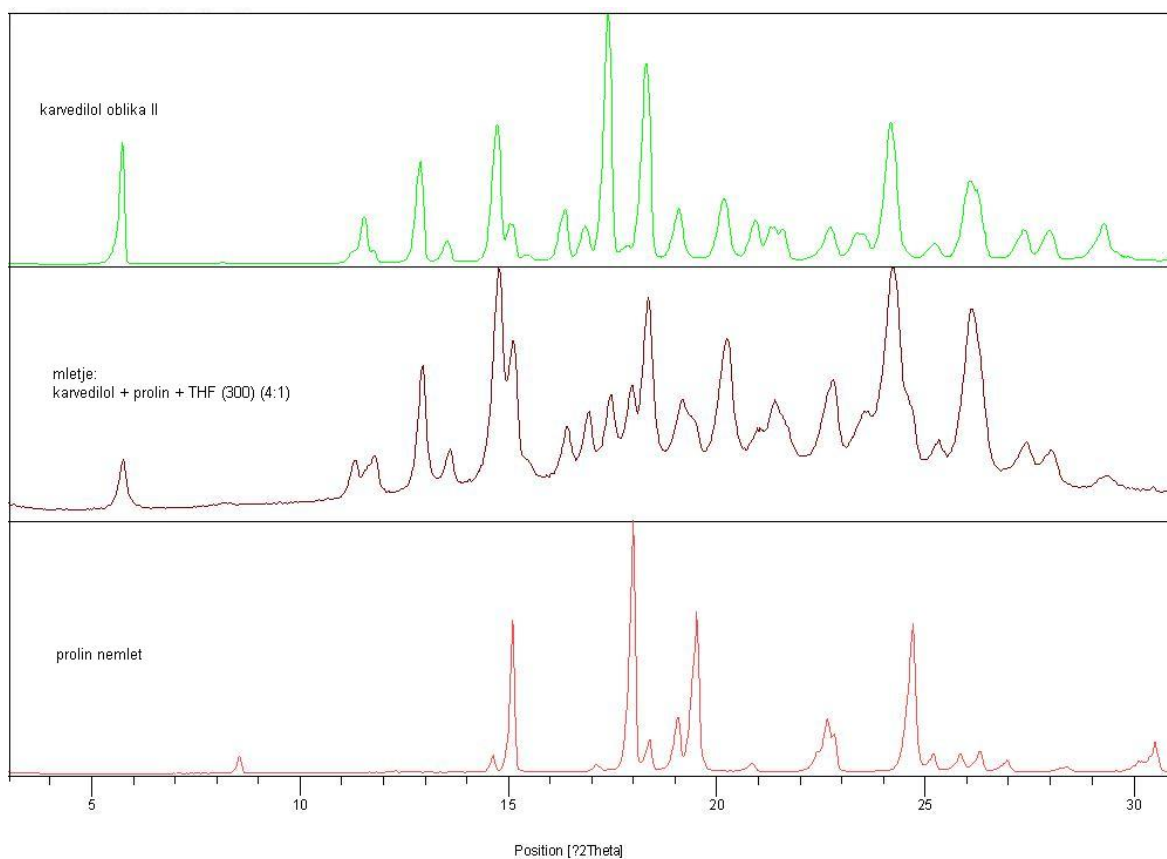
Od preučevanih 11 aminokislin se je pri dveh aminokislinah zgodilo, da smo z analizami dokazali, da pri mletju, brez in z dodatkom topila, do interakcij s karvedilolom ne pride. Ti aminokislinski sta prolin in glutaminska kislina.

▪ PROLIN



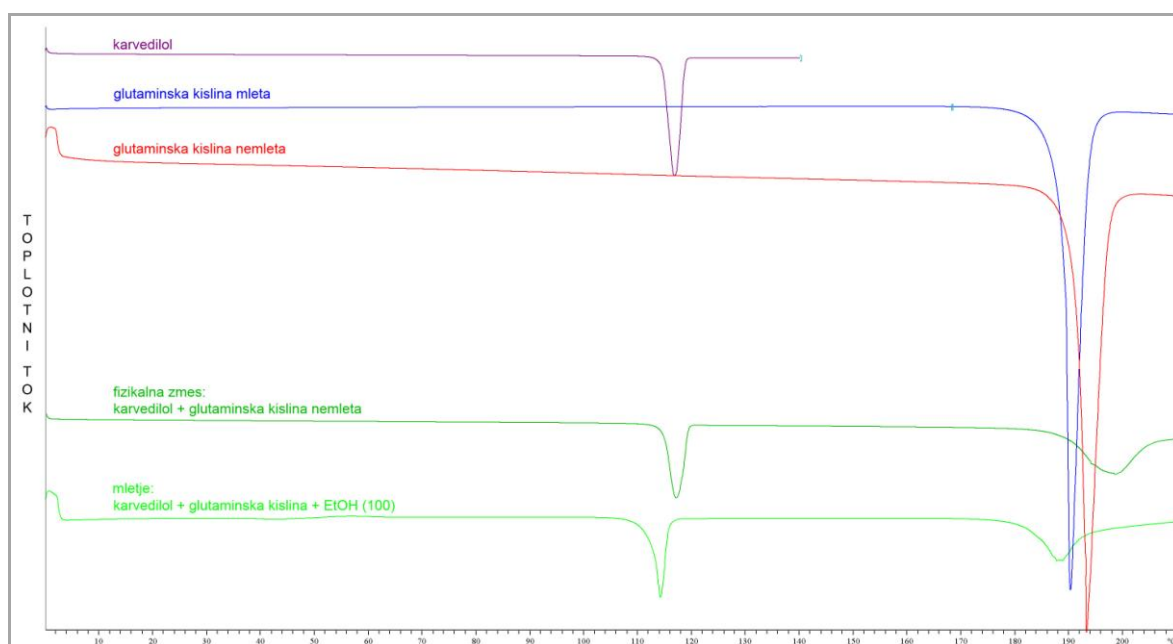
Slika 14. DSC krivulje karvedilola, prolina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in prolina z različnimi količinami THF.

Slika 14 kaže, da se pri stehiometrijskem razmerju karvedilol:prolin=1:1 (100 μ L THF) pojavi dodatni endotermni signal (pri 120°C). Pri vseh DSC analizah zmesi opazimo taljenje karvedilola, medtem ko taljenja prolina ni zaznati, kar je verjetno posledica raztapljanja te aminokisliline v talini učinkovine. Premik tališča karvedilola k nižjim temperaturam je posledica zmanjšanja velikosti delcev pri mletju.



Slika 15. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika II, mletje: karvedilol + prolin + THF (300) (4:1), prolin. Rezultati rentgenske praškovne difrakcije (slika 15) kažejo, da pri mletju do interakcij ni prišlo, saj so pri zmesi karvedilola (oblika II) in prolina vidni le ukloni obeh komponent.

▪ GLUTAMINSKA KISLINA



Slika 16. DSC krivulje karvedilola, glutaminske kisline, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in glutaminske kisline.

Slika 16 prikazuje, da pri mletju karvedilola z glutaminsko kislino do interakcij ni prišlo. V primeru zmesi sta prisotna ločena vrhova, ki predstavljata taljenje obeh komponent.

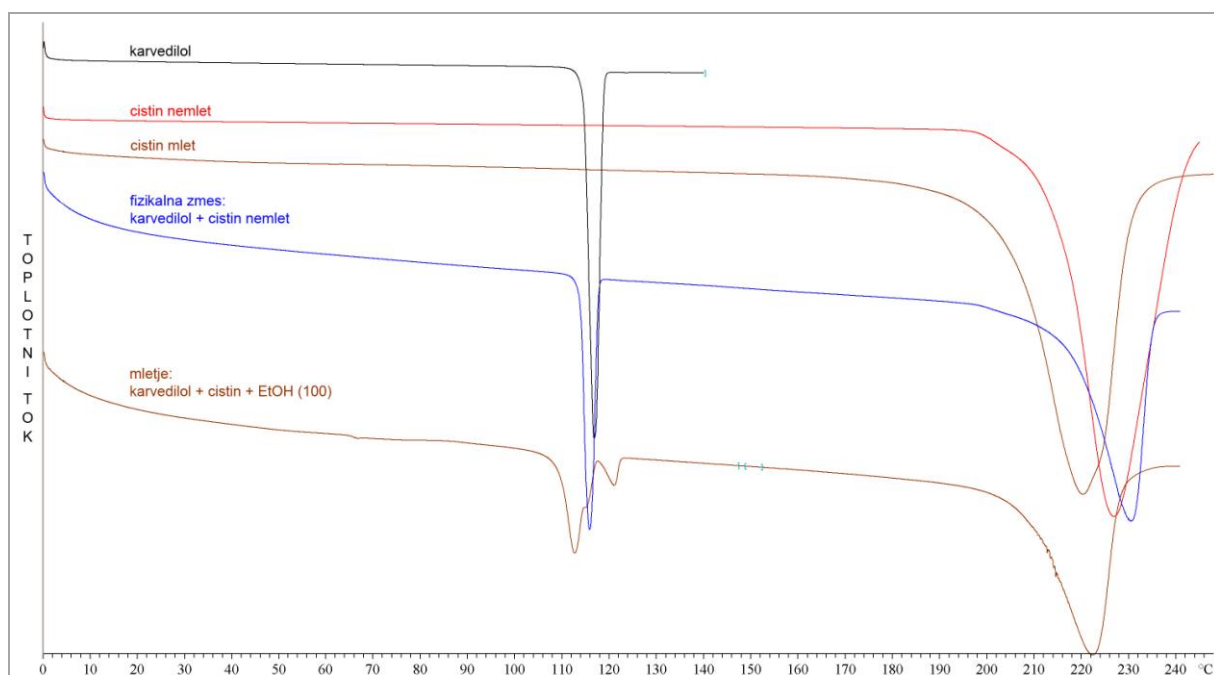
4.4.2 AMINOKISLINE, KI SO POVZROČILE SPREMEMBO KRISTALNE STRUKTURE KARVEDILOLA

4.4.2.1 Aminokislina, ki so povzročile popoln prehod v drugo kristalno obliko karvedilola

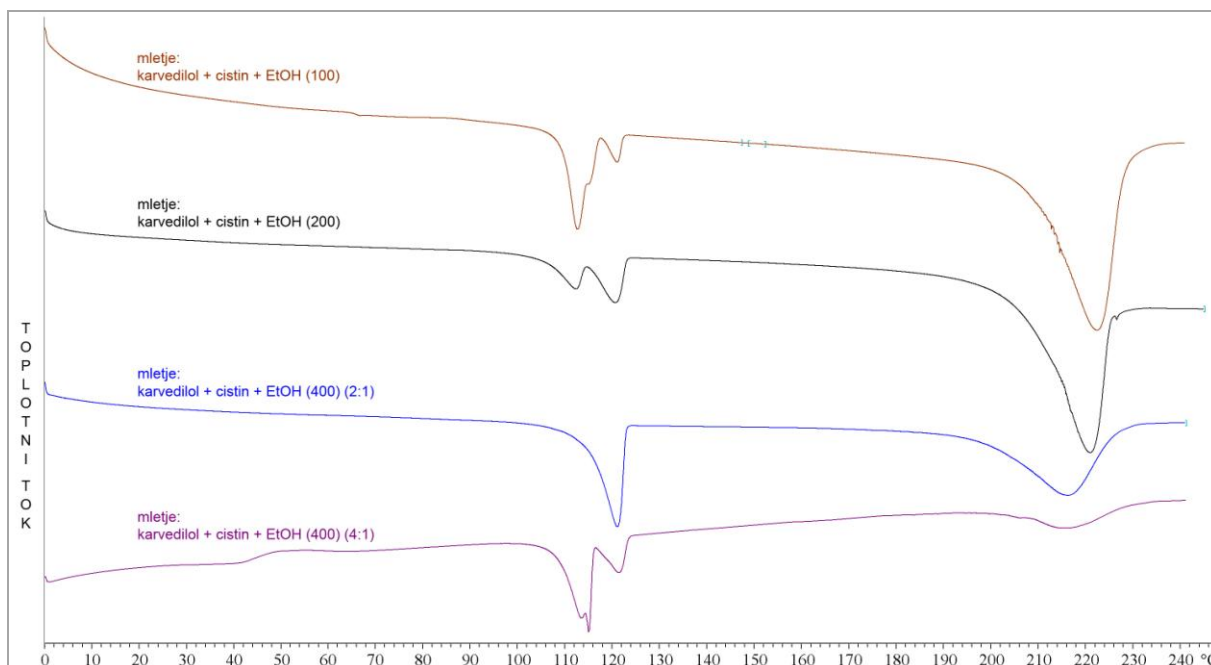
- Popoln prehod v obliko I

Do popolnega prehoda karvedilola v obliko I je prišlo pri cistinu, serinu in tirozinu.

▪ CISTIN



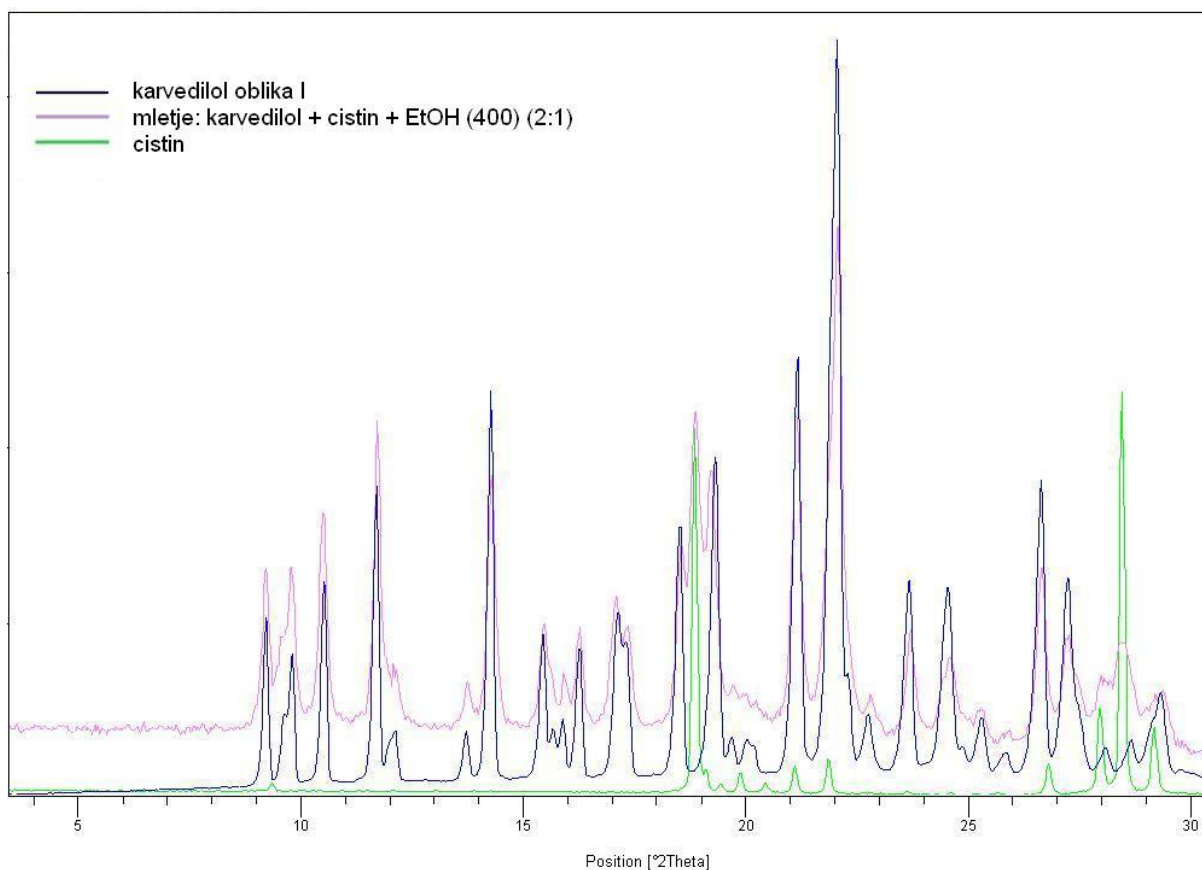
Slika 17. DSC krivulje karvedilola, cistina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in cistina.



Slika 18. DSC krivulje mletih zmesi karvedilola in cistina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.

Sliki 17 in 18 kažeta, da se pri stehiometrijskem razmerju karvedilol:cistin=1:1 (100 μ L EtOH) pojavi nov endotermni vrh (pri 120°C), ki se pri mletju z 200 μ L EtOH še poveča. V primeru razmerja 2:1 in 400 μ L EtOH je v DSC krivulji prisoten samo ta vrh, medtem ko vrh pri 114°C izgine. V primeru razmerja 4:1 in 400 μ L EtOH se zopet pojavita oba vrhova (pri 114°C in pri 120°C). Iz teh rezultatov lahko ugotovimo, kako razmerje komponent v zmesi, količina dodanega topila in čas mletja vplivajo na lastnosti mlete zmesi.

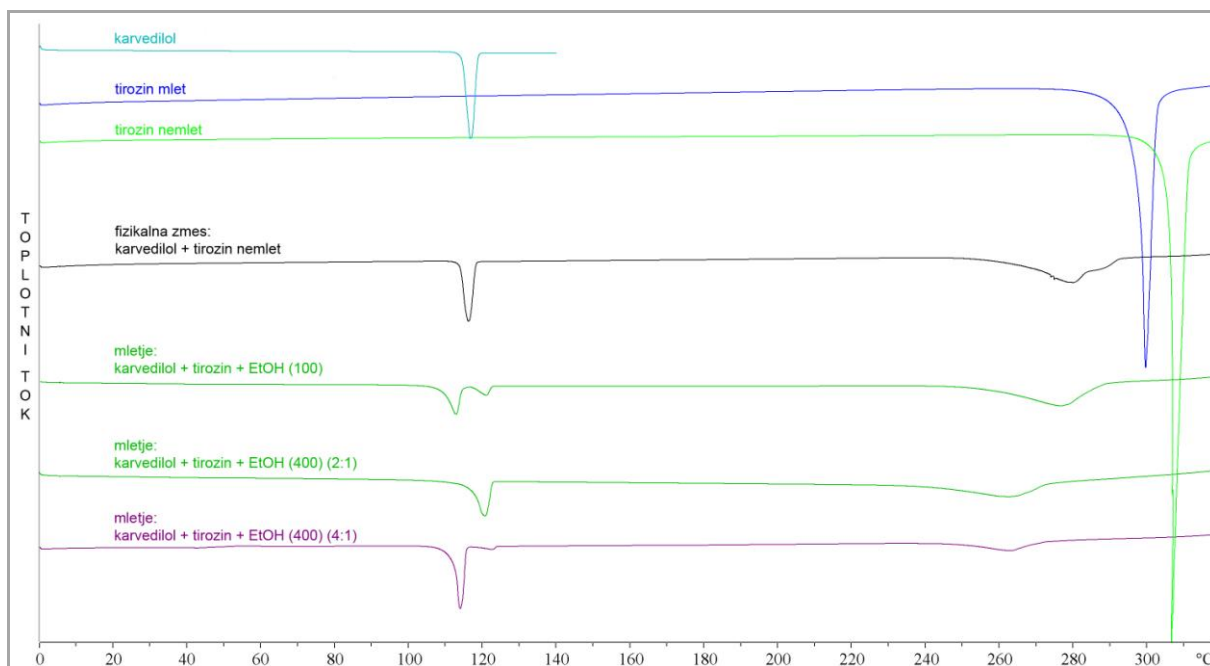
Pri mletju brez topila ter pri mletju z ostalimi topili (THF in aceton) do pojava dodatnega endotermnega signala ni prišlo, signal karvedilola (oblika II) se je premaknil nekoliko v levo (zaradi zmanjšanja velikosti delcev zaradi mletja). Pri mletju z vodo smo dobili enako DSC krivuljo kot pri fizikalni zmesi.



Slika 19. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika I, mletje: karvedilol + cistin + EtOH (400) (2:1), cistin.

Rezultati rentgenske praškovne difrakcije (slika 19) kažejo, da je v primeru mletja karvedilola s cistinom z dodatkom EtOH (razmerje 2:1, 400 μ L EtOH) prišlo do pretvorbe karvedilola oblike II v obliko I (vir difraktograma karvedilol oblika I: Tovarna zdravil Krka). Iz tega lahko potrdimo, da endotermni vrh v DSC krivulji (pri 120°C) pripada taljenju oblike I.

▪ TIROZIN

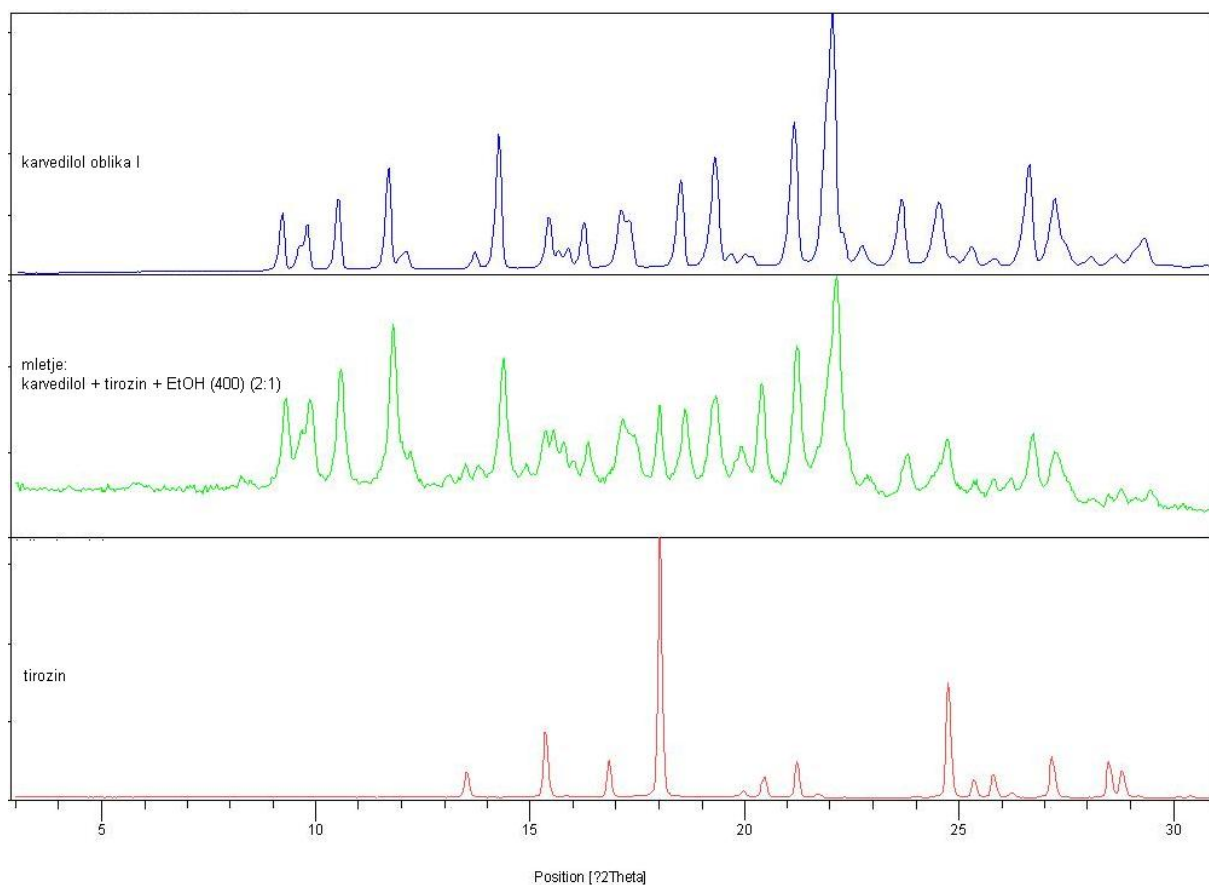


Slika 20. DSC krivulje karvedilola, tirozina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in cistina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.

Slika 20 ponazarja, da se je pri stehiometrijskem razmerju karvedilol:tirozin=1:1 (100 μ L EtOH) pojavil dodatni endotermni signal (pri 120°C). V primeru razmerja 2:1 in 400 μ L EtOH je v krivulji prisoten le še ta vrh. V primeru razmerja 4:1 in 400 μ L EtOH se zopet pojavita oba vrhova (pri 114°C in pri 120°C).

Pri mletju brez topila ter pri mletju z ostalimi topili (THF in aceton) do pojava dodatnega endotermnega signala ni prišlo, signal karvedilola (oblika II) se je premaknil nekoliko v levo (zaradi zmanjšanja velikosti delcev zaradi mletja). Pri mletju z vodo smo dobili enako DSC krivuljo kot pri fizikalni zmesi.

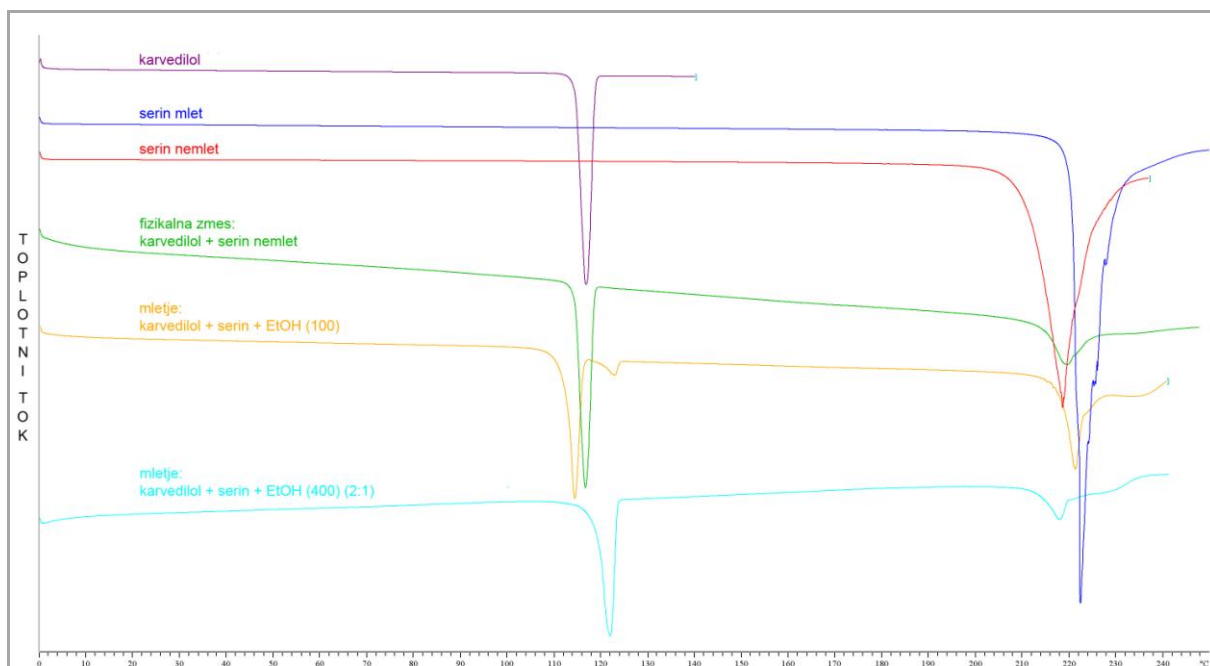
Premik signala temperature taljenja tirozina proti nižjim temperaturam (torej znižanje tališča tirozina) je posledica raztapljanja tirozina v talini karvedilola.



Slika 21. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika I, mletje: karvedilol + tirozin + EtOH (400) (2:1), tirozin.

Rezultati rentgenske praškovne difrakcije (slika 21) kažejo, da je v primeru mletja karvedilola s tirozinom z dodatkom EtOH (razmerje 2:1, 400 μ L EtOH) prišlo do pretvorbe karvedilola oblike II v obliko I. Iz tega lahko potrdimo, da endotermni vrh v DSC krivulji (pri 120°C) pripada taljenju oblike I.

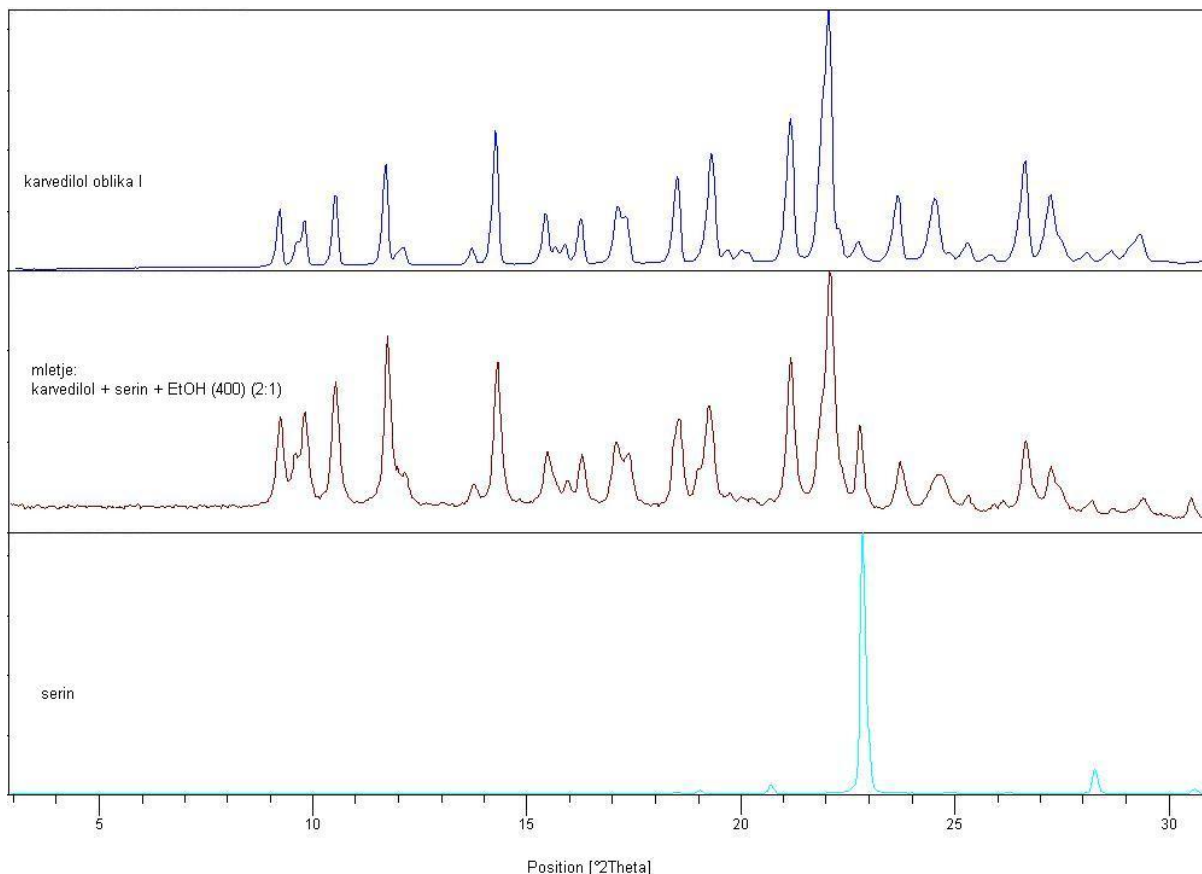
▪ SERIN



Slika 22. DSC krivulje karvedilola, serina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in serina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.

Slika 22 kaže, da se je v DSC krivulji pri stehiometrijskem razmerju karvedilol:serin=1:1 (100 µL EtOH) poleg vrha pri 114°C pojavil dodaten endotermni vrh pri 120°C. V primeru razmerja 2:1 in 400 µL EtOH je prisoten le še ta vrh.

Pri mletju zmesi brez topila, z dodatkom acetona ali vode se signal taljenja karvedilola (oblika II) premakne nekoliko v levo (zaradi zmanjšanja velikosti delcev zaradi mletja), dodatni endotermni signal pa se ne pojavi. Pri mletju z dodatkom 100 µL THF se dodatni endotermni signal pojavi, ampak izgine pri dodatku 400 µL THF in razmerju karvedilol:serin=2:1.



Slika 23. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika I, mletje: karvedilol + serin + EtOH (400) (2:1), serin.

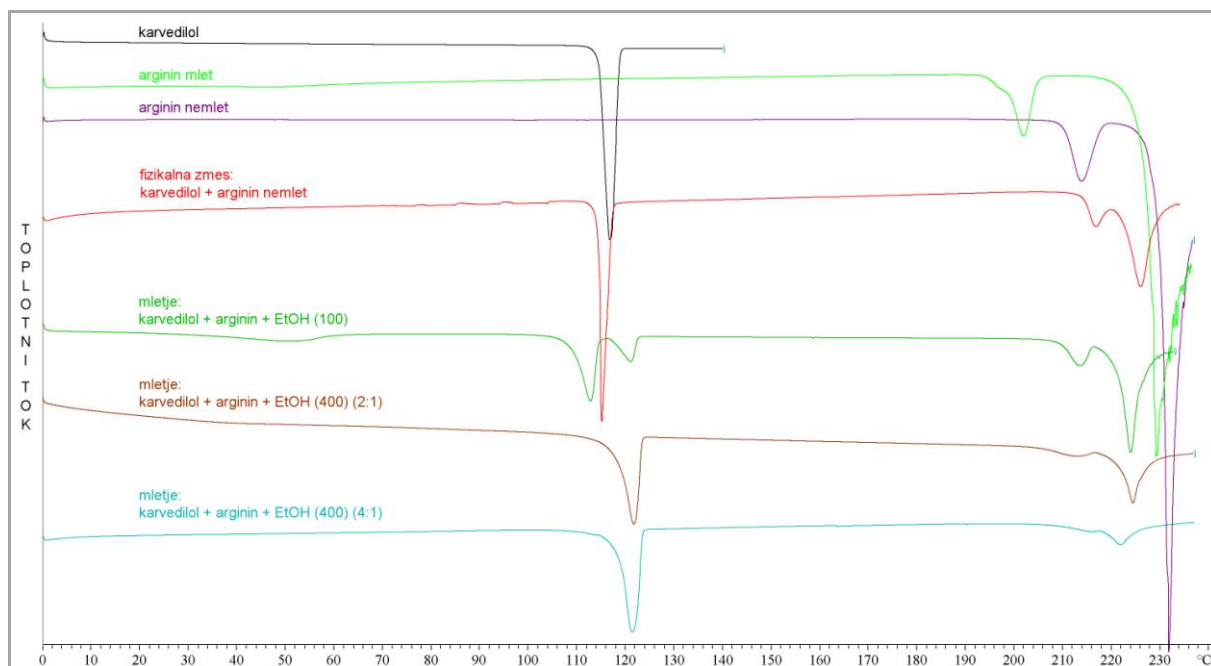
Rezultati rentgenske praškovne difrakcije (slika 23) kažejo, da je pri mletju karvedilola in serina (razmerje 2:1, 400 μ L EtOH) prišlo do pretvorbe karvedilola oblike II v obliko I. Torej se rezultati DSC analize in rentgenske praškovne difrakcije skladajo. Oboji kažejo na popoln prehod oblike II v obliko I.

4.4.2.2 Aminokisliline, ki so povzročile prehod v zmes dveh oblik karvedilola

- *Prehod v zmes oblik II in I*

Prehod v zmes oblik II in I se je zgodil v primeru mletja karvedilola z alaninom, argininom, asparaginom, fenilalaninom in treoninom.

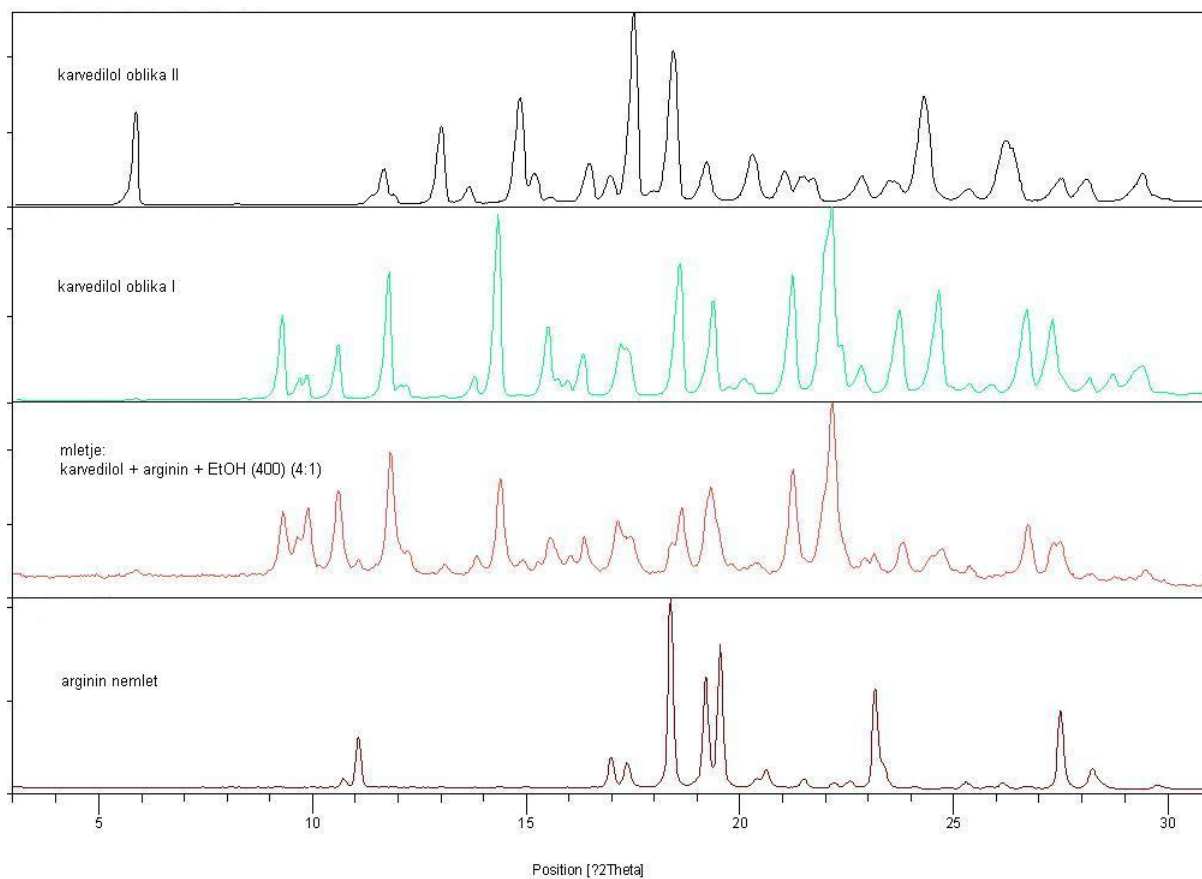
▪ ARGININ



Slika 24. DSC krivulje karvedilola, arginina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in arginina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.

Iz DSC krivulj na sliki 24 razberemo, da v primeru mletja čistega arginina pride do znižanja temperature tališča arginina, ki je posledica zmanjšanja velikosti delcev zaradi mletja. DSC krivulja fizikalne zmesi predstavlja vsoto termičnih lastnosti posameznih komponent. Pri mletih vzorcih se je v primeru stehiometrijskega razmerja 1:1 (dodatek 100 μL EtOH) poleg tališča karvedilola in arginina pojavil nov endotermni vrh pri 120°C. Sklepali smo na nastanek nove kristalne strukture, kar se nam je po mletju zmesi v drugem stehiometrijskem razmerju in z več topila (razmerje karvedilol:arginin=2:1 in 400 μL EtOH), ko je ostal le drugi vrh (pri 120°C), zdelo še bolj verjetno. Tudi v primeru razmerja 4:1 in dodatku 400 μL EtOH je ostal le vrh pri 120°C. Predvidevali smo, da je bilo razmerje 4:1 pravo za nastanek nove kristalne strukture.

Pri vzorcih, pridobljenih z mletjem z dodatkom acetona in z mletjem brez topila, v DSC krivuljah ni bilo zaznati novih talilnih vrhov, signal karvedilola se je premaknil proti nižjim temperaturam. Pri dodatku vode smo dobili identično DSC krivuljo kot pri fizikalni zmesi. Pri dodatku THF (100 μL in razmerje 1:1) se je pojavil dodatni endotermni signal (pri 120°C), ki pa je pri razmerju 2:1 in 400 μL THF izginil.



Slika 25. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika II, karvedilol oblika I, mletje: karvedilol + arginin + EtOH (400) (4:1), arginin.

Rezultati rentgenske praškovne difrakcije so pokazali, da je v primeru mletja z argininom ob prisotnosti etanola (razmerje 4:1, 400 μ L EtOH) prišlo do pretvorbe kristalne oblike karvedilola. Poleg osnovne oblike II je nastala tudi oblika I (slika 25). Možen vzrok, da v DSC krivulji ne vidimo dveh talilnih vrhov, je v tem, da je bila hitrost segrevanja prevelika in sta se dva signala zlila v enega (tališči obeh oblik znašata 114°C in 120°C). Druge razlage, zakaj je v DSC krivulji viden le en signal, XRPD analiza zazna obe kristalni obliki karvedilola, so:

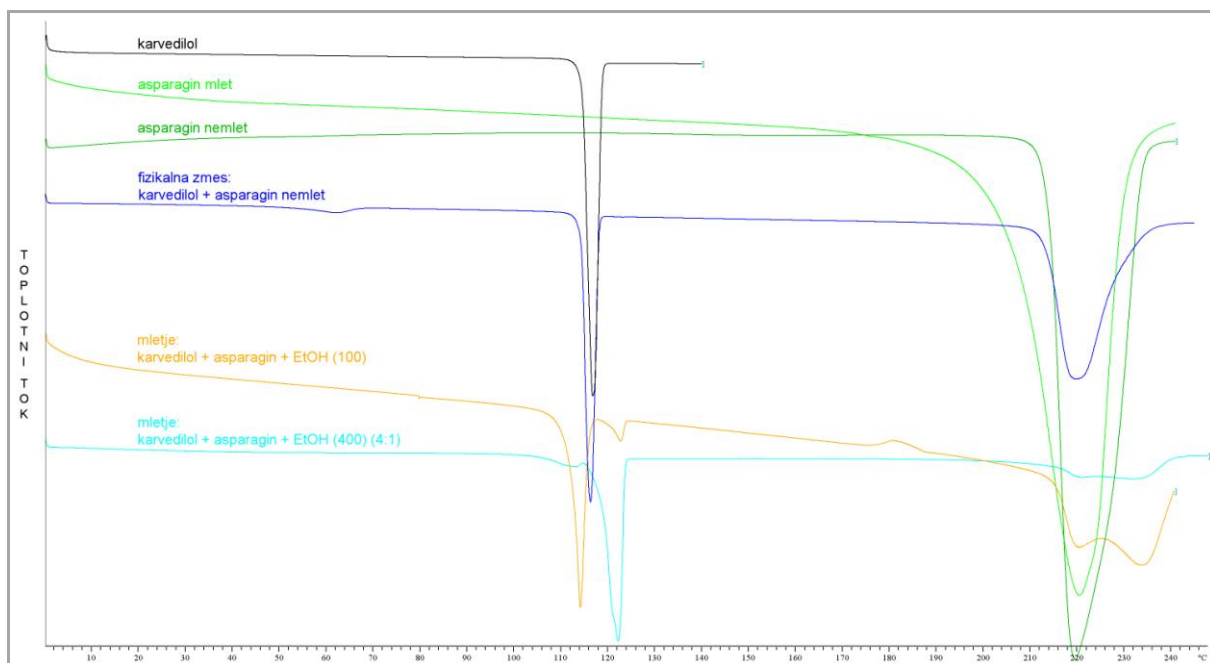
- 1) Tudi XRPD analiza kaže na majhen delež oblike II (tega majhnega deleža DSC analiza ni zmogla pokazati).
- 2) V našem primeru je mogoče tudi, da smo z mletjem amorforizirali karvedilol, ki lahko rekristalizira v različne kristalne strukture. (Kovačič s sodelavci je opisal primer, ko karvedilol iz oblike II na zraku preide v obliko III. To se zgodi zaradi vezave vlage iz zraka (90). Tako denimo se lahko amorfni delež karvedilola med segrevanjem pri analizi DSC pretvarja v obliko I in tako DSC analiza pokaže, da je več oblike I, kot je sicer pokaže XRPD.

3) Med čakanjem na XRPD analizo lahko amorfni karvedilol kristalizira v obliko II.

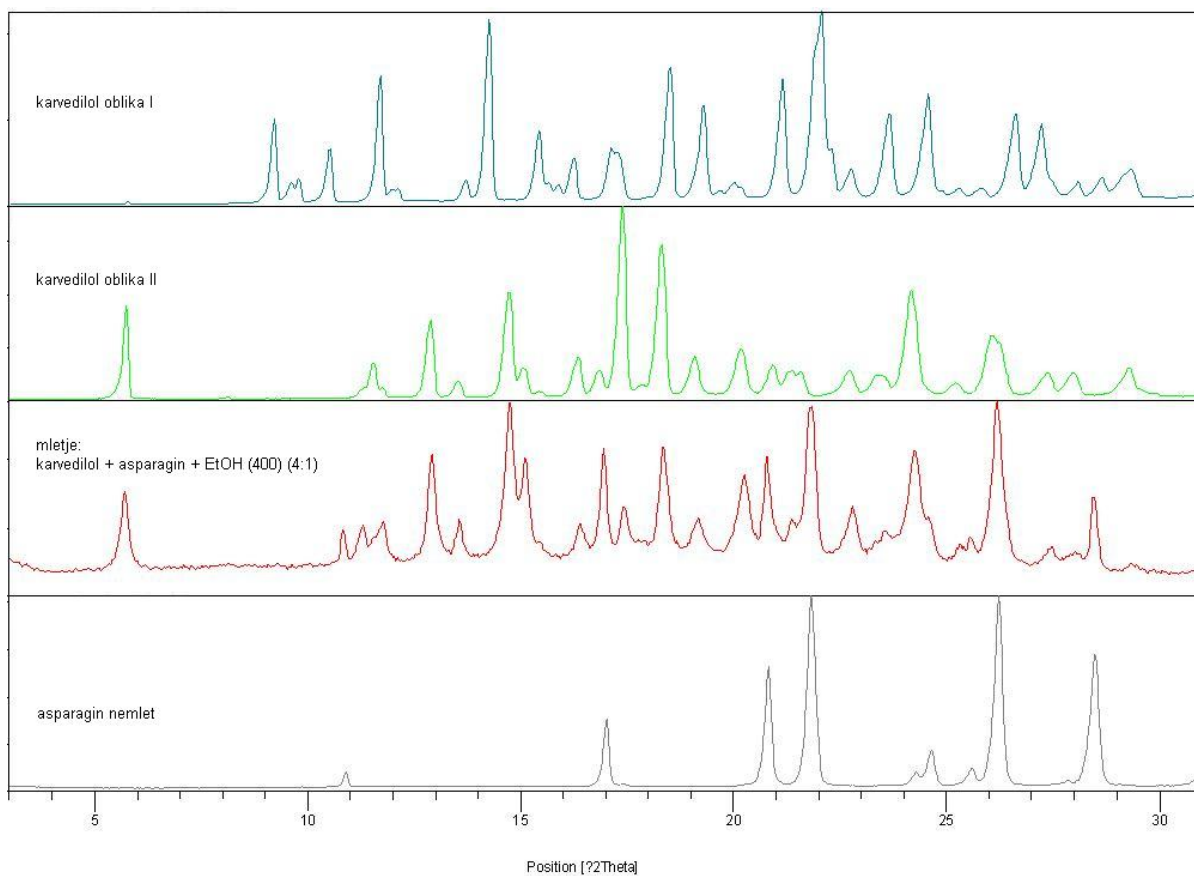
▪ **ASPARAGIN, ALANIN, FENILALANIN IN TREONIN**

Tudi v primeru uporabe asparagina, alanina in fenilalanina kot potencialnega tvorca kokristalov je podobno kot pri argininu prišlo med mletjem z etanolom do nepopolne pretvorbe kristalne oblike karvedilola v obliko I. Tako iz DSC krivulj v primeru mletja z asparaginom, alaninom in fenilalaninom z dodatkom 400 μL EtOH opazimo pojav novega endotermnega signala pri 120°C. Signal pri 114°C se komajda opazi. Rezultati XRPD analize pa kažejo prisotnost dveh kristalnih oblik karvedilola v vzorcu (oblika II in oblika I) (slike 26 - 31).

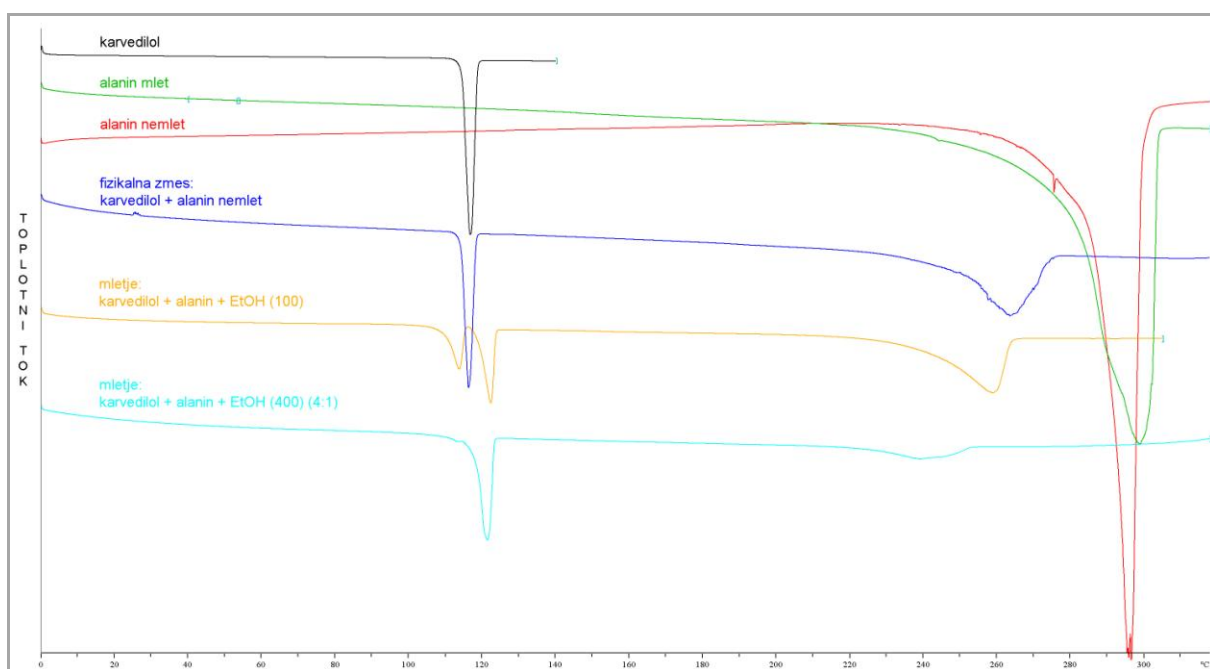
Tudi v primeru treonina kot potencialnega tvorca kokristalov XRPD analiza kot rezultat poda prisotnost oblik II in I v približnem razmerju 1:1. Na podobno razmerje lahko sklepamo tudi iz DSC krivulj (slike 32 in 33).



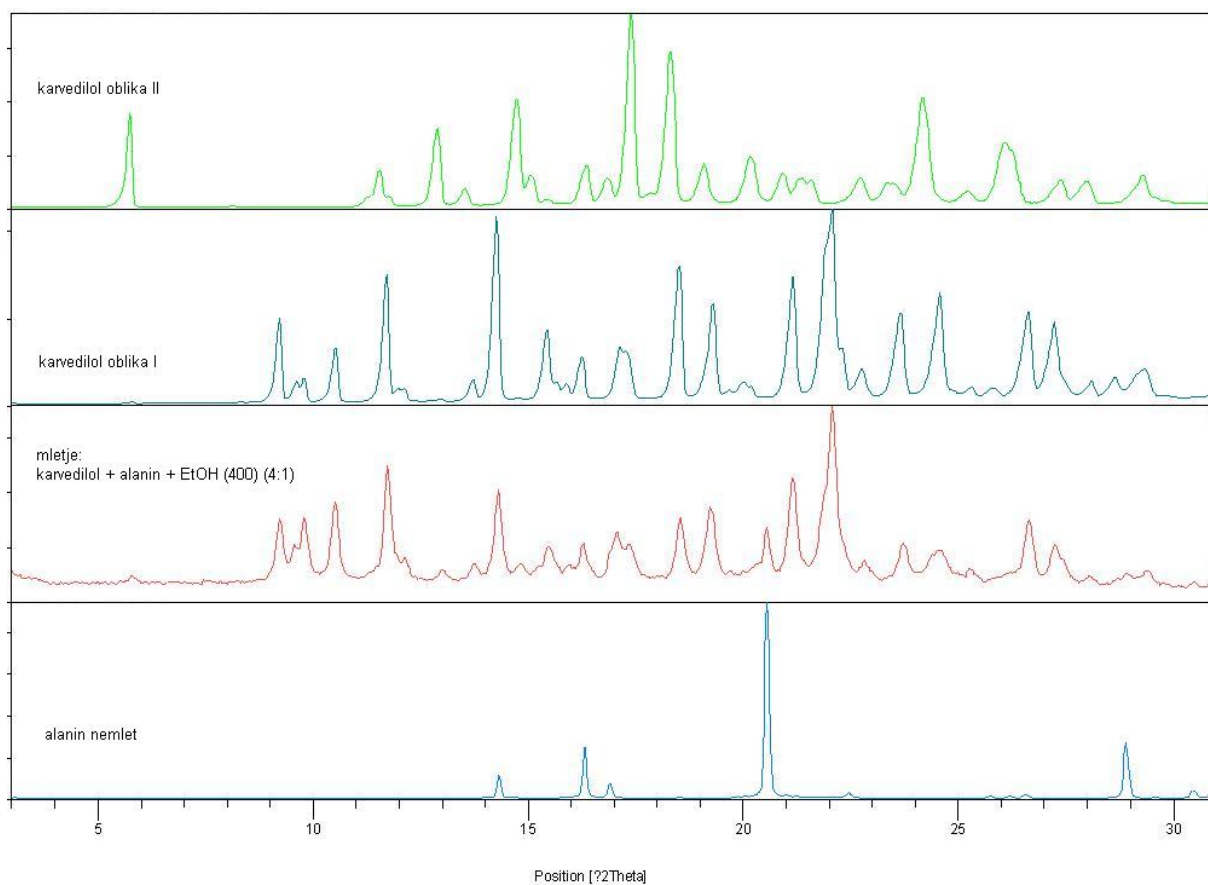
Slika 26. DSC krivulje karvedilola, asparagina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in asparagina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.



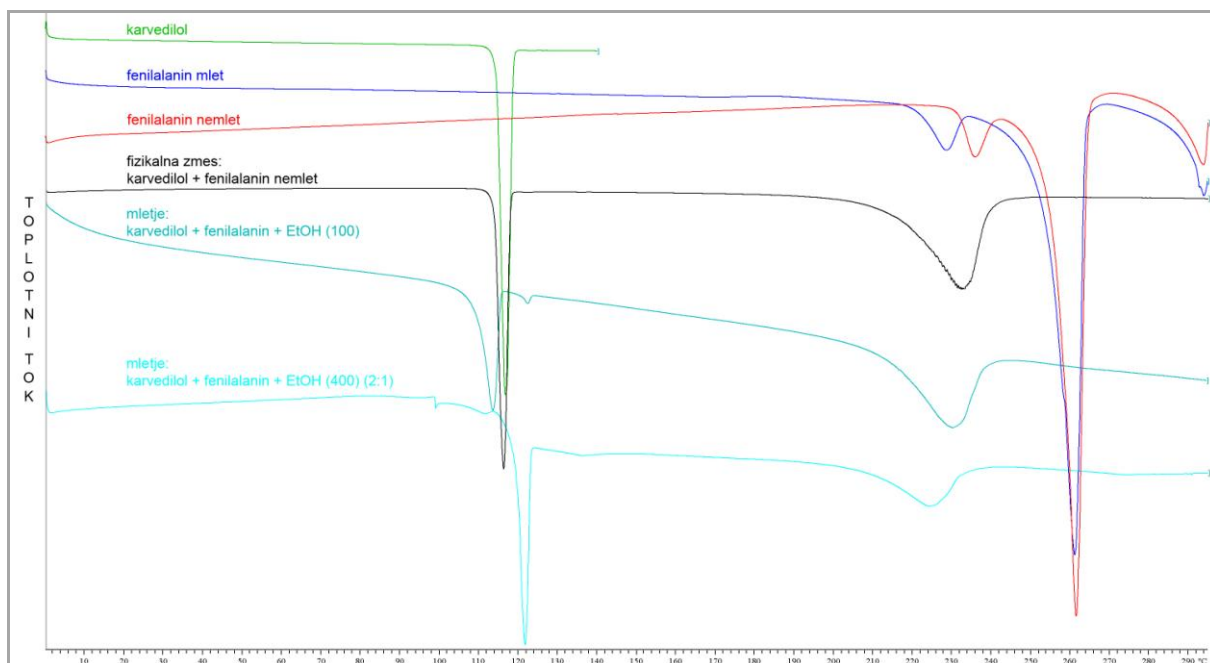
Slika 27. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika I, karvedilol oblika II, mletje: karvedilol + asparagin + EtOH (400) (4:1), asparagin.



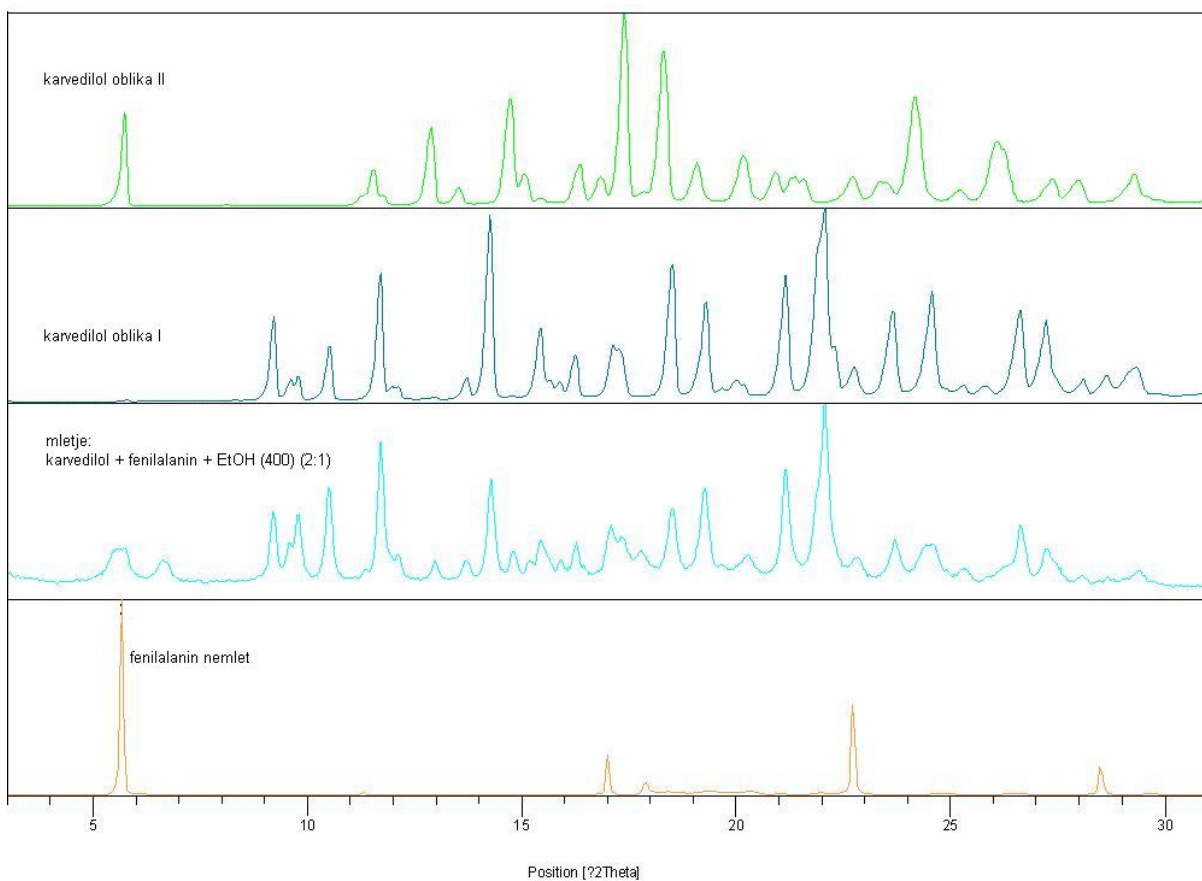
Slika 28. DSC krivulje karvedilola, alanina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in alanina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.



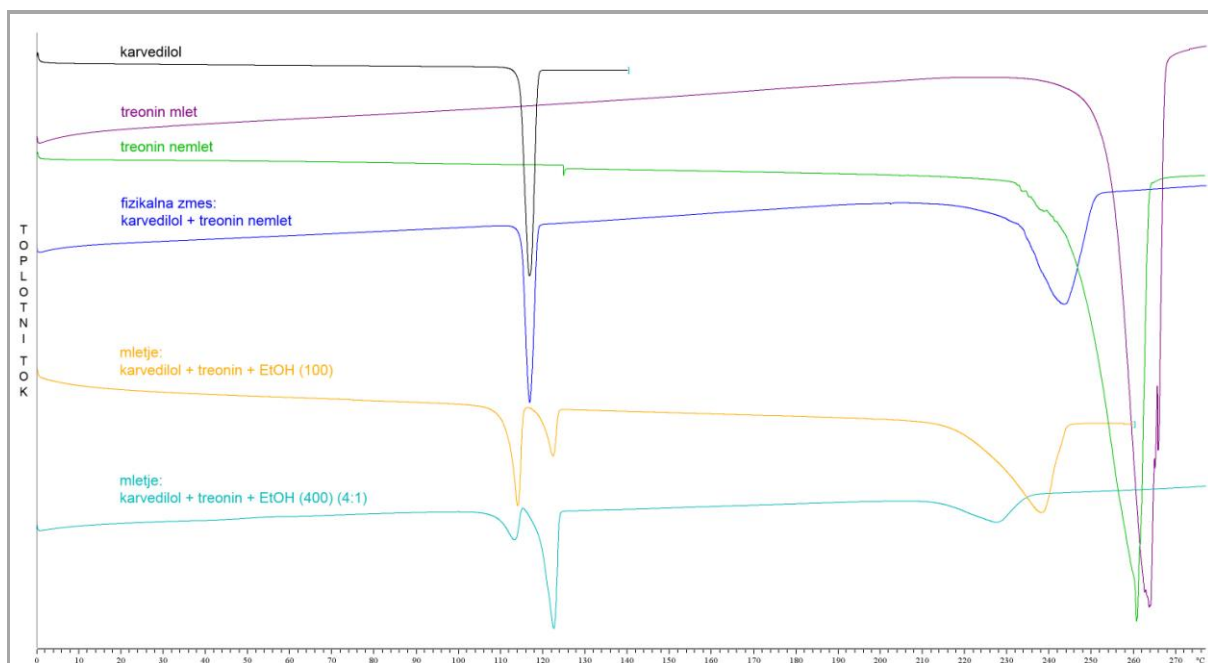
Slika 29. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika II, karvedilol oblika I, mletje: karvedilol + alanin + EtOH (400) (4:1), alanin.



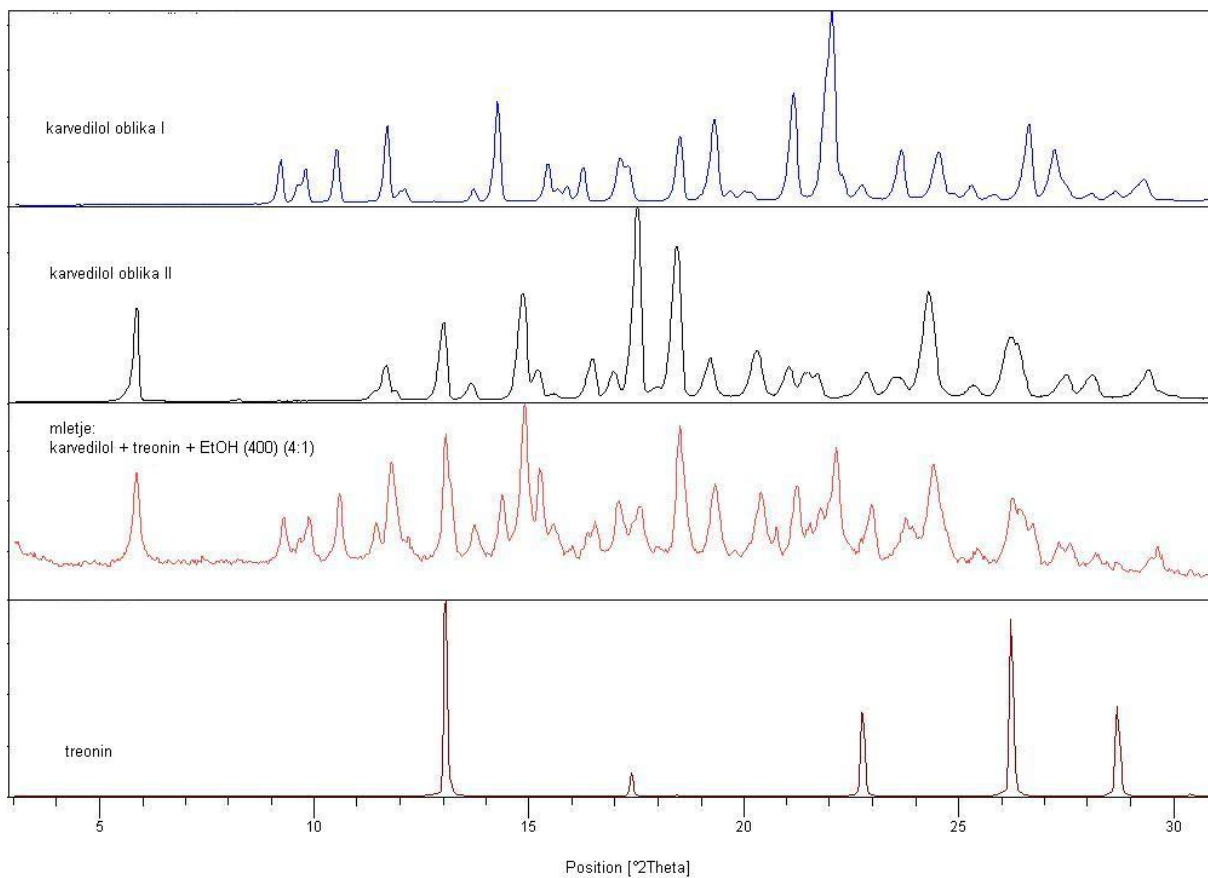
Slika 30. DSC krivulje karvedilola, fenilalanina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in fenilalanina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.



Slika 31. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika II, karvedilol oblika I, mletje: karvedilol + fenilalanin + EtOH (400) (2:1), fenilalanin.



Slika 32. DSC krivulje karvedilola, treonina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in treonina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.

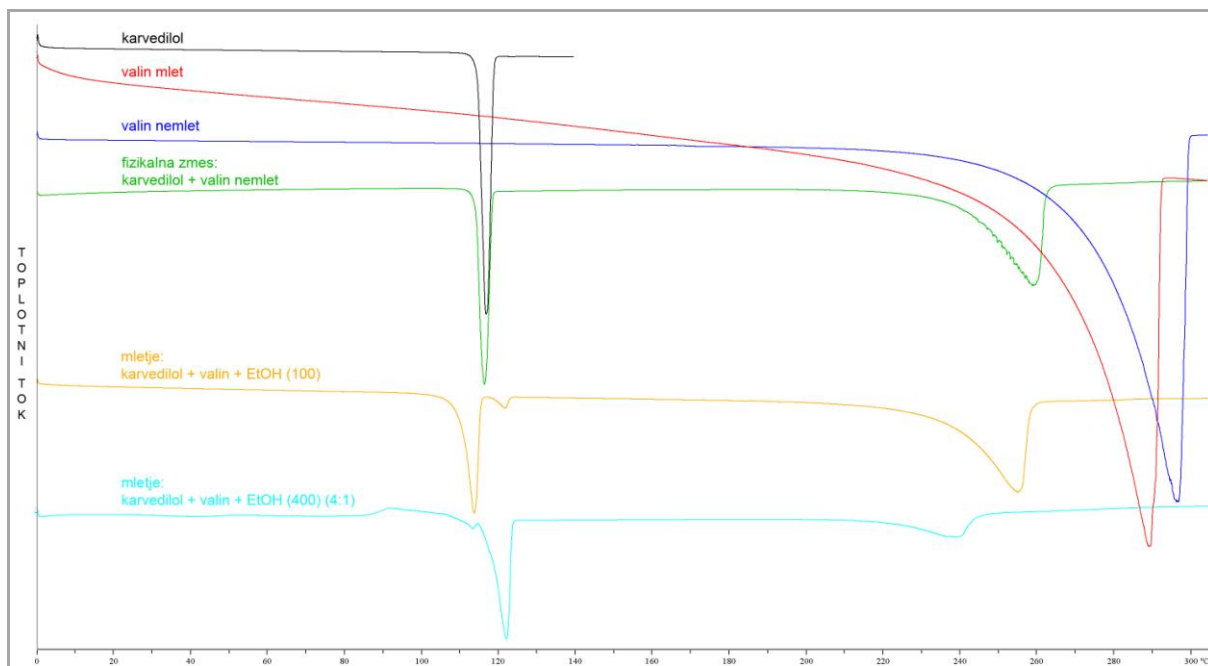


Slika 33. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika I, karvedilol oblika II, mletje: karvedilol + treonin + EtOH (400) (4:1), treonin.

- Prehod v zmes oblik I in III

Pri mletju karvedilola z valinom ob dodatku EtOH je prišlo do prehoda kristalne oblike II v zmes kristalnih oblik I in III.

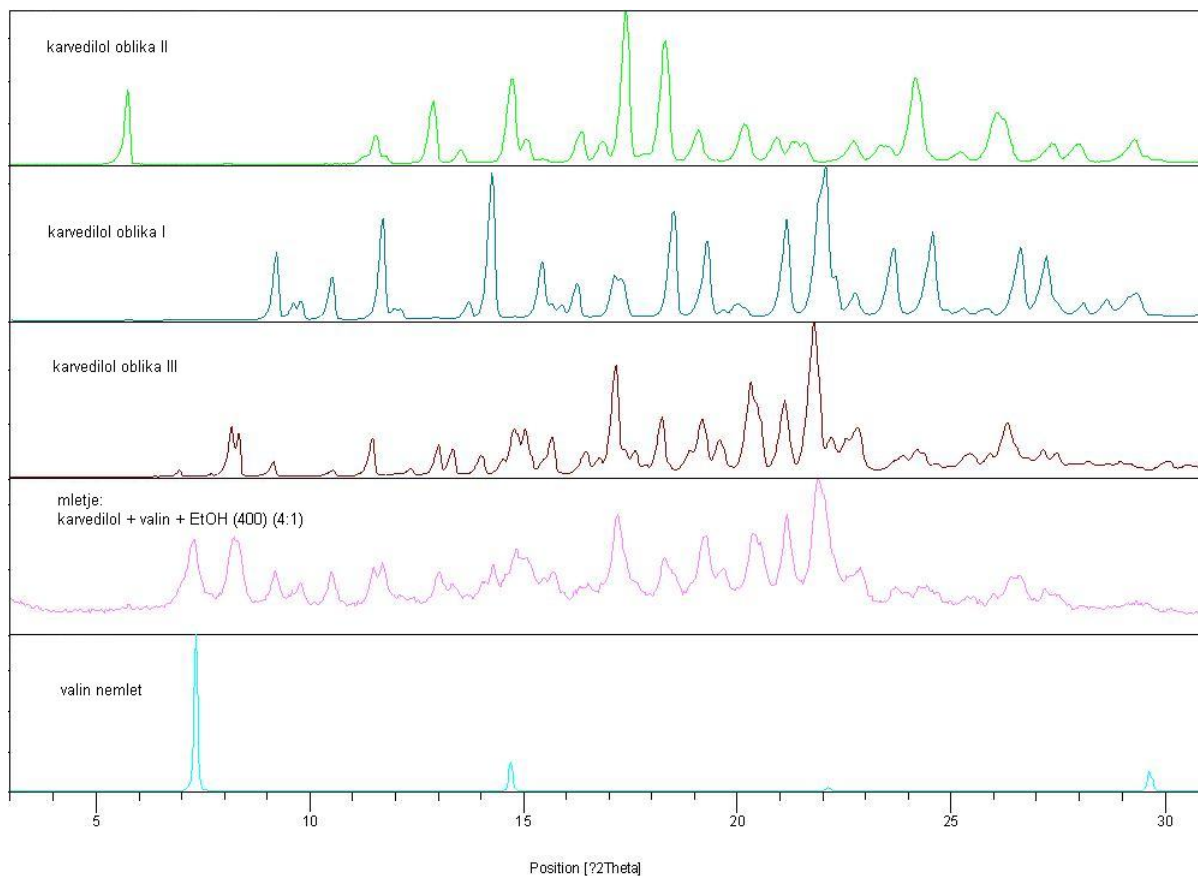
- VALIN



Slika 34. DSC krivulje karvedilola, valina, fizikalne zmesi in mlete zmesi karvedilola in valina v različnih razmerjih in z različnimi količinami EtOH.

Pri mletih vzorcih smo pri stehiometrijskem razmerju 1:1 (dodatek 100 μL EtOH) zaznali nov endotermni vrh pri 120°C. Sklepali smo na nastanek nove kristalne strukture. Po mletju zmesi v stehiometrijskem razmerju 4:1 in z dodatkom 400 μL EtOH se je vrh pri 120°C še povečal (slika 34).

Pri vzorcih, pridobljenih z mletjem brez topila ali z dodatkom THF, acetona ali vode, v DSC krivuljah ni bilo zaznati novih talilnih vrhov, taljenje karvedilola se je premaknilo k nekoliko nižjim temperaturam, kar lahko pripišemo zmanjšanju velikosti delcev in vplivu adsorbiranega topila na taljenje.



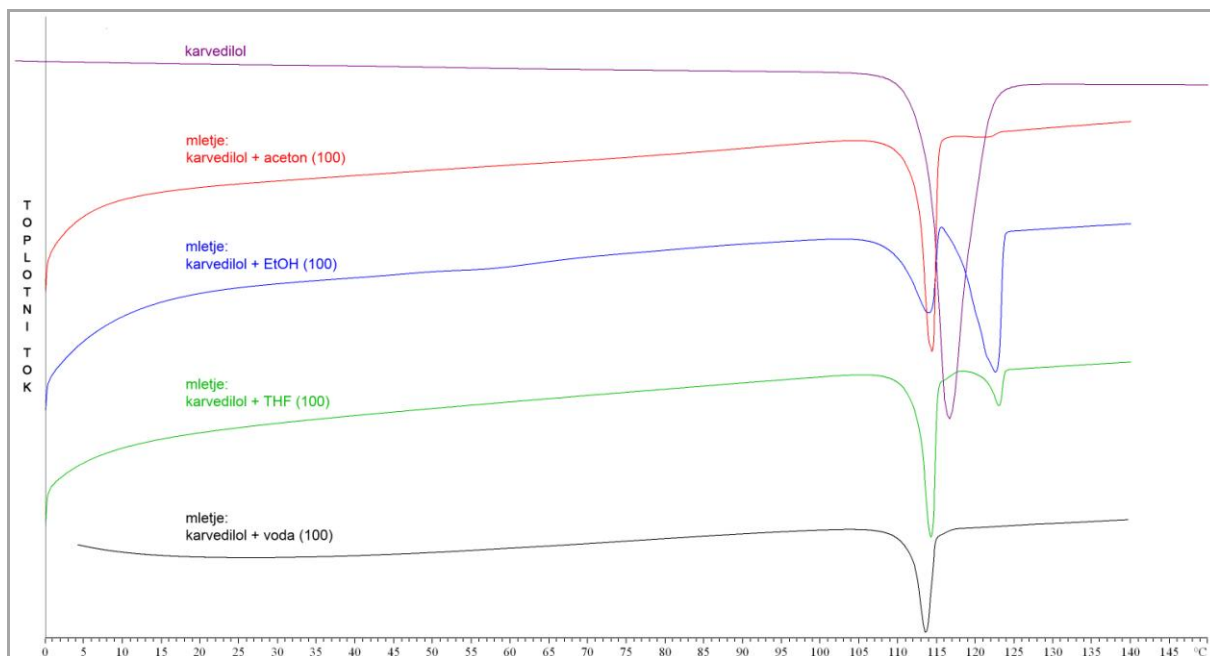
Slika 35. Praškovni difraktogrami: karvedilol oblika II, karvedilol oblika I, karvedilol oblika III, mletje: karvedilol + valin + EtOH (400) (4:1), valin.

Rezultati rentgenske praškovne difrakcije (slika 35) kažejo, da je v primeru mletja karvedilola z valinom v razmerju 4:1 ob dodatku 400 μL EtOH prišlo do prehoda kristalne oblike II v zmes kristalnih oblik I in III (v približnem razmerju 1:1) (vir difraktograma karvedilol oblika III: Tovarna zdravil Krka).

Obliko III vidimo v DSC krivulji iz rekristalizacije pri 105°C in nato s taljenjem pri 114°C, ki predstavlja temperaturo tališča oblike II. Vrh pri 123-126°C predstavlja obliko I. To se ujema z literaturnimi podatki, objavljenimi v patentu EP1406614B1.

4.5 MLETJE KARVEDILOLA S TOPILI BREZ DODATKA AMINOKISLIN

Preverili smo tudi, kako na pretvorbo kristalne oblike vplivajo sama topila. Ugotovili smo, da je prišlo pri mletju karvedilola ob dodatku EtOH ali THF do prehoda kristalne oblike II v zmes kristalnih oblik I in II. Pri mletju karvedilola ob dodatku acetona ali vode ni prišlo do sprememb v kristalni strukturi karvedilola, karvedilol je ostal v obliki II.



Slika 36. DSC krivulje nemlettega karvedilola in mletega karvedilola z dodatkom različnih topil.

Slika 36 povzema spremembe, ki so se zgodile tekom mletja karvedilola z različnimi topili. EtOH in THF sta povzročila prehod karvedilola v zmes kristalnih oblik II in I. V DSC krivulji se je pojavil dodaten endotermni vrh pri 120 °C. S podaljšanim mletjem in večjo količino topila ni prišlo do popolnega prehoda kristalne oblike II v kristalno obliko I. V primeru uporabe acetona ali vode se z mletjem vzorec ni bistveno spremenil.

5 SKLEP

V diplomski nalogi smo proučevali, ali karvedilol (kristalna oblika II) tvori kokristale z aminokislinami. Kot metodo priprave kokristalov smo uporabili mletje sestavin v krogličnem mlinu z dodatkom ali brez dodatka topila.

Za aminokislino smo se odločili na osnovi pregleda podeljenih patentov in vloženih patentnih prijav na področju kokristalov. Pregled se nahaja v Prilogi in iz njega je razvidno, da se aminokislino velikokrat pojavljajo v kokristalih kot tvorci kokristalov. Vzrok za primernost aminokislin kot tvorcev kokristalov se nahaja v njihovi sposobnosti tvorbe vodikovih vezi, ki so najpomembnejše interakcije pri nastanku kokristala.

Ocenili smo topnost aminokislin v topilih, uporabljenih pri mletju. Vseh 11 uporabljenih aminokislin je skoraj netopnih v etanolu, acetonu in tetrahidrofuranu. Nekoliko izstopa topnost prolina v etanolu, ki bi ga lahko uvrstili v skupino zelo težko topno. Topnost aminokislin v vodi se med preučevanimi aminokislinami zelo razlikuje. Slaba topnost aminokislin v nekaterih topilih za pripravo kokristalov s stališča možnosti nastanka kokristala verjetno ni problematična, na kar kažejo tudi rezultati naših raziskav spremembe kristalne oblike učinkovine po mletju s temi snovmi.

Po analizi mletih zmesi z DSC in XRPD smo ugotovili, da do nastanka kokristalov ni prišlo. V večini primerov smo v DSC krivuljah pri 120°C zaznali dodaten endotermni signal, ki je ustrezal taljenju karvedilola kristalne oblike I. Ugotovili smo, da različne aminokislino ob mletju s karvedilolom različno vplivajo na kristalne pretvorbe te zdravilne učinkovine. Aminokislino arginin, asparagin, alanin, fenilalanin in treonin so povzročile prehod karvedilola v zmes oblik II in I. Pri uporabi valina je prišlo do nastanka zmesi oblik I in III. Pri mletju karvedilola s cistinom, tirozinom in serinom je prišlo do popolnega prehoda v obliko I.

V primeru mletja karvedilola z dodatkom topil in brez aminokislin je pri etanolu in THF prišlo do nastanka zmesi oblik II in I. V primeru mletja brez aminokislin nam s podaljševanjem mletja in s povečano količino topila ni uspelo dobiti čiste oblike I. Predvidevamo, da lahko z mletjem karvedilola z nekaterimi aminokislinami stabiliziramo kristalno obliko I.

V nadaljevanju raziskovalnega dela bi se bilo smiselno posvetiti pripravi mletih zmesi še s preostalimi aminokislinami. Tako bi dobili popolno sliko, katere aminokislino stabilizirajo

določeno obliko karvedilola. Prav tako bi bilo potrebno preučiti, kakšna je fizikalna stabilnost izdelane kristalne oblike pri povišani temperaturi in relativni vlažnosti zraka.

6 LITERATURA

1. Huang LF, Tong WQ: Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. *Adv Drug Deliver Rev* 2004; 56: 321-334.
2. Vippaguntha SR, Brittain HG, Grant DJW: Crystalline solids. *Adv Drug Deliver Rev* 2001; 48: 3-26.
3. Datta S, Grant DJW: Crystal structures of drugs: Advances in determination, prediction and engineering. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 42-57.
4. Sekhon BS: Pharmaceutical co-crystals – a review. *Ars Pharm* 2009; 50: 99-117
5. Morissette SL, Almarsson Ö, Peterson ML: High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Adv Drug Deliver Rev* 2004; 56: 275–300.
6. Aakeröy CB, Fasulo ME, Desper J: Cocrystal or Salt: Does It Really Matter?. *Mol Pharm* 2007; 4: 317-322.
7. Zaworotko MJ: Molecules to Crystal, Crystals to Molecules ... and Back Again?. *Cryst Growth Des* 2007; 7: 4-9.
8. Kovačič B, Planinšek O, Vrečer F: Kokristali zdravilnih učinkovin. *Farm vestn* 2010; 61: 30-36.
9. Childs SL, Stahly GP, Park A: The Salt-Cocrystal Continuum: The Influence of Crystal Structure on Ionization State. *Mol Pharm* 2007, 4: 323-338.
10. Mohamed S, Tocher DA, Vickers M, Karamertzanis PG, Price SL: Salt or Cocrystal? A New Series of Crystal Structures Formed from Simple Pyridines and Carboxylic Acids. *Cryst Growth Des* 2009; 9: 2881-2889.
11. Bhogala BR, Nangia A: Ternary and quaternary co-crystals of 1,3-*cis*,5-*cis*-cyclohexanetricarboxylic acid and 4,4-bipyridines. *New J Chem* 2008; 32: 800-807.
12. Velaga SP, Basavoju S, Bostrom D: Norfloxacin saccharinate-saccharin dihydrate cocrystal – A new pharmaceutical cocrystal with an organic counter ion. *J Mol Struct* 2008; 29: 150-153.
13. Childs SL, Chyall LJ, Dunlap JT et al: Crystal Engineering Approach to Forming Cocrystals of Amine Hydrochlorides with Organic Acids. Molecular Complexes of Fluoxetine Hydrochloride with Benzoic, Succinic, and Fumaric Acids. *J Am Chem Soc* 2004; 126: 13335-13342.

14. Schultheiss N, Newman A: Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. *Cryst Growth Des* 2009; 9: 2950-2967.
15. Vishweshwar P, McMahon JA, Bis JA, Zaworotko MJ: Pharmaceutical Co-Crystals. *J Pharm Sci* 2006; 93: 499-516.
16. <http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-gras.html>
17. Vishweshwar P, McMahon JA, Zaworotko MJ: Crystal Engineering of Pharmaceutical Co-crysals, *Frontiers in Crystal Engineering*, John Wiley & Sons, 2006: 25-49.
18. Rodriguez-Hornedo N, Nehm SJ, Jayasankar A: Cocrystals: Design, Properties and Formation Mechanisms. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 3rd Edition*, Informa Healthcare, New York 2007: 615-636.
19. Blagden N, de Matas M, Gavan PT, York P: Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Adv Drug Deliver Rev* 2007; 59: 617-630.
20. Stahly GP: Diversity in Single-and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals. *Cryst Growth Des* 2007; 7: 1007-1026.
21. Good DJ, Rodriguez-Hornedo N: Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals. *Cryst Growth Des* 2009; 9: 2252-2264.
22. Shan N, Zaworotko MJ: The role of cocrystals in pharmaceutical science. *Drug Disc Today* 2008; 13: 440-446.
23. McNamara DP, Childs SL, Giordano J, Iarriccio A, Cassidy J, Shet MS, Mannion R, O'Donnell E, Park A: Use of a Glutaric Acid Cocrystal to Improve Oral Bioavailability of a Low Solubility API. *Pharm Res* 2006; 23: 1888-1896.
24. Hickey MB, Peterson ML, Scoppettuolo LA et al: Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 67: 112-119.
25. Mirza S, Miroshnyk I, Heinämäki J, Yliruusi J: Co-crystals: An Emerging Approach for Enhancing Properties of Pharmaceutical Solids. *Dosis* 2008; 2: 90-96.
26. Basavoju S, Boström D, Velaga SP: Indomethacin-Saccharin Cocrystal: Design, Synthesis and Preliminary Pharmaceutical Characterization. *Pharm Res* 2007; 25: 530-541.
27. Trask AV, Motherwell WDS, Jones W, Pharmaceutical Cocrystalliation: Engineering a Remedy for Caffeine Hydration. *Cryst Growth Des* 2005; 5: 1013-1021.

28. Surface measurements systems 3rd international DVS user group meeting, Imperial College, London, GB, 9th June, 1999 / 4th international DVS user group meeting, Colmar, France, 3-6. September 2003.
29. Tiwary AK: Modification of crystal habit and its role in dosage form performance. *Drug Dev Ind Pharm* 2001; 27: 699–709.
30. Yang G, Kubota N, Sha Z et al: Crystal Shape Control by Manipulating Supersaturation in Batch Cooling Crystallization. *Cryst Growth Des* 2006; 6: 2799-2803.
31. Trask AV: An Overview of Pharmaceutical Cocrystals as Intellectual Property. *Mol Pharm* 2007; 4: 301-309.
32. <http://www.uil-sipo.si/uil/dejavnosti/patenti/>
33. Shattock TR, Arora KK, Vishweshwar P, Zaworotko MJ: Hierarchy of Supramolecular Synthons: Persistent Carboxylic Acid ··· Pyridine Hydrogen Bonds in Cocrystals That also Contain a Hydroxyl Moiety. *Cryst Growth Des* 2008; 8: 4533-4545.
34. Seefeldt K, Miller J, Alvarez-Nunez F, Rodriguez-Hornedo N: Crystallization Pathways and Kinetics of Carbamazepine-Nicotinamide Cocrystals From the Amorphous State by *In Situ* Thermomicroscopy, Spectroscopy and Calorimetry Studies. *J Pharm Sci* 2006; 96: 1147-1157.
35. Jayasankar A, Good DJ, Rodriguez-Hornedo N: Mechanisms by Which Moisture Generates Cocrystals. *Mol Pharm* 2007; 4: 360-372.
36. Aakeröy CB: Crystal engineering: strategies and architectures. *Acta Crystallogr Sect B* 1997; 53: 569-586.
37. Aakeröy CB, Beatty AM, Helfrich BA et al: Do polymorphic compounds make good cocrystallising agents? A structural case study that demonstrates the importance of synthon flexibility. *Cryst Growth Des* 2003; 3: 159-165.
38. Aakeröy CB, Salmon DJ: Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility. *Cryst Eng Comm* 2005; 7: 439-448.
39. Braga D, Grepioni F: Reactions Between or Within Molecular Crystals. *Angew Chem Int Ed* 2004; 43: 4002-4011.
40. Braga D, Grepioni F, Maini L, Polito M: Crystal Polymorphism and Multiple Crystal Forms. *Struct Bond* 2009; 132: 25-50.

41. Friščić T, Jones W: Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding. *Cryst Growth Des* 2009; 9: 1621-1637.
42. Shan N, Toda F, Jones W: Mechanochemistry and co-crystal formation: effect of solvent on reaction kinetics. *Chem Comm* 2002; 2372-2373.
43. Trask AV, Motherwell WDS, Jones W: Solvent-drop grinding: green polymorph control of cocrystalisation. *Chem Comm* 2004; 890-891.
44. Li Z, Yang BS, Jiang M, Eriksson M, Spinelli E, Yee N, Senanayake C: A Practical Solid Form Screen Approach to Identify a Pharmaceutical Glutaric Acid Cocrystal for Development. *Org Process Res Dev* 2009; 13: 1307-1314.
45. Trask AV, Shan N, Motherwell WDS, Jones W, Feng S, Tan RBH, Carpenter KJ: Selective polymorph transformation via solvent-drop grinding. *Chem Comm* 2005; 7: 880-882.
46. Cheney ML, Zaworotko MJ, Beaton S, Singer RD: Cocrystal Controlled Solid-State Synthesis. A Green Chemistry Experiment for Undergraduate Organic Chemistry. *J Chem Educ* 2008; 85: 1649-1651.
47. Rastogi RP, Bassi PS, Chadha LS: Mechanism of the Reaction Between Hydrocarbons and Picric Acid in the Solid State. *J Phys Chem* 1963; 67: 2569-2573.
48. Imai Y, Tajima N, Sato T, Kuroda R: Visualization of Molecular Recognition: A Novel System Based on Charge-Transfer Complexes Composed of 1,1'-Bi-2-naphthol Derivatives and *p*-Benzoquinone. *Org Lett* 2006; 8: 2941-2944.
49. Kuroda R, Higashiguchi K, Hasebe S, Imai Y: Crystal to crystal transformation in the solid state. *Cryst Eng Comm* 2004; 6: 463-468.
50. Karki S, Friščić T, Motherwell WDS, Jones W: Screening for Pharmaceutical Cocrystal Hydrates via Neat and Liquid-Assisted Grinding. *Mol Pharm* 2007; 4: 347-354.
51. Chadwick K, Davey RJ, Cross W: How does grinding produce co-crystals? Insights from the case of benzophenone and diphenylamine. *Cryst Eng Comm* 2007; 9: 732-734.
52. Willart J F, Descamps M: Solid State Amorphization of Pharmaceuticals. *Mol Pharm* 2008; 5: 905-920.
53. Jayasankar A, Somwangthanaroj A, Shao ZJ et al: Cocrystal Formation during Cogrinding and Storage is Mediated by Amorphous Phase. *Pharm Res* 2006; 23: 2381-2392.

54. Braga D, Giaffreda SL, Rubini K, Grepioni F, Chierotti MR, Gobetto R: Making crystals from crystals: three solvent-free routes to the hydrogen bonded co-crystal between 1,1'-di-pyridyl-ferrocene and anthranilic acid. *Cryst Eng Comm* 2007; 9: 39–45.
55. Friščić T, Jones W: Cocrystal architecture and properties: design and building of chiral and racemic structures by solid–solid reactions. *Faraday Discuss* 2007; 136: 167–178.
56. Chiarella RA, Davey RJ, Peterson ML: Making Co-Crystals - The Utility of Ternary Phase Diagrams. *Cryst Growth Des* 2007; 7: 1223–1226.
57. Friščić T, Childs SL, Rizvi SA, Jones W: The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome. *Cryst Eng Comm* 2009; 11: 418-426.
58. Braga D, Giaffreda SL, Grepioni F, Chierotti MR, Gobetto R, Palladino G, Polito M: Solvent effect in a “solvent free” reaction. *Cryst Eng Comm* 2007; 9: 879–881.
59. Berry DJ, Seaton CC, Clegg W, Harrington RW, Coles SJ, Horton PN, Hursthouse MB, Storey R, Jones W, Friščić T, Blagden N: Applying Hot-Stage Microscopy to Co-Crystal Screening: A Study of Nicotinamide with Seven Active Pharmaceutical Ingredients. *Cryst Growth Des* 2008; 8: 1697–1712.
60. Lu E, Rodríguez-Hornedo N, Suryanarayanan R: A rapid thermal method for cocrystal screening. *Cryst Eng Comm*, 2008; 10: 665-668.
61. Takata N, Shiraki K, Takano R, Hayashi Y, Terada K: Cocrystal Screening of Stanolone and Mestanolone Using Slurry Crystallization. *Cryst Growth Des* 2008; 8: 3032-3037.
62. Schartman RR: On the thermodynamics of cocrystal formation. *Int J Pharm* 2009; 365: 77-80.
63. Vogt FG, Clawson JS, Strohmeier M et al: Solid-State NMR Analysis of Organic Cocrystals and Complexes. *Cryst Growth Des* 2009; 9: 921-937.
64. Almarsson Ö, Hickey MB, Peterson M et al: Pharmaceutical co-crystal compositions of drugs such as carbamazepine, celecoxib, olanzapine, itraconazole, topiramate, modafinil, 5-fluorouracil, hydrochlorothiazide, acetaminophen, aspirin, flurbiprofen, phenytoin and ibuprofen. *PCT WO* 2004/078163 2004.
65. Allessš M, Velaga S, Alhalweh A et al: Near-Infrared Spectroscopy for Cocrystal Screening. A Comparative Study with Raman Spectroscopy. *Anal Chem* 2008; 80: 7755-7764.

66. Harris RK: NMR studies of organic polymorphs & solvates. *Analyst* 2006; 131: 351-373.
67. Trask AV, Jones W: Crystal Engineering of Organic Cocrystals by the Solid-State Grinding Approach. *Top Curr Chem* 2005; 254: 41-70.
68. Karki S, Fabian L, Frišćić T, Jones W: Powder X-ray Diffraction as an Emerging Method to Structurally Characterize Organic Solids. *Org Lett* 2007; 9: 3133–3136.
69. Trask AV, van de Streek J, Motherwell WDS, Jones W: Achieving Polymorphic and Stoichiometric Diversity in Cocrystal Formation: Importance of Solid-State Grinding, Powder X-ray Structure Determination, and Seeding. *Cryst Growth Des* 2005; 5: 2233-2241.
70. Kinsel RG, Zhao Q, Narayanasamy J et al: Arginine/2,5-Dihydroxybenzoic Acid Clusters: An Experimental and Computational Study of the Gas-Phase and Solid-State Systems. *J Phys Chem* 2004; 108: 3153-3161.
71. Wenger M, Bernstein J: Cocrystal Design Gone Awry? A New Dimorphic Hydrate of Oxalic Acid. *Mol Pharm* 2007; 4: 355-359.
72. Tilborg A, Michaux C, Norberg B, Wouters J: Advantages of cocrystallization in the field of solid-state pharmaceutical chemistry: L-Proline and MnCl₂. *Eur J Med Chem* 2010; 45: 3511-3517.
73. Timofeeva VT, Kuhn HG et al: Cocrystal of 1,1-Dicyano-2-(4-hydroxyphenyl)-ethene with L-Proline and Induced Conformational Polymorphism of 1,1-Dicyano-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-ethene. *Cryst Growth Des* 2003; 3: 383-391.
74. Imamura et al: Cocrystal of C-glycoside derivate and L-proline. US 2009/0143316 A1 2009.
75. Muramulla S et al: 1-[3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl]-3-[(5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]octan-2-yl)(6-methoxyquinolin-4-yl)methyl]thiourea–L-proline–methanol (1/1/1). *Acta Cryst* 2009; E65: o3070
76. Liang P: A cocrystal of pyridine-2,4-dicarboxylic acid and serine. *Acta Cryst* 2008; E64: o43.
77. Elbagerma MA, Edwards HGM et al: Characterization of New Cocrystals by Raman Spectroscopy, Powder X-ray Diffraction, Differential Scanning Calorimetry, and Transmission Raman Spectroscopy. *Cryst Growth Des* 2010; 10: 2360-2371.

78. Burchell JT, Soldatov VD: The ability of lower peptides to form co-crystals: inclusion compounds of Leu-Leu-Leu tripeptide with pyridine and picolines. *Cryst Eng Comm* 2007; 9: 922-929.
79. Burchell JT, Soldatov VD, Ripmeester AJ: Crystal structure of the co-crystal ALA-VAL·ALA·H₂O: A layered inclusion compound. *J Struct Chem* 2008; 49: 188-191.
80. Bluhm L, Huang J, Li T: Recent advances in peptide chiral selectors for electrophoresis and liquid chromatography. *Anal Bioanal Chem* 2005; 382: 592-598.
81. Ohyama K et al: Preparation and characterization of poly(L-phenylalanine) chiral stationary phases with varying peptide length. *J Chromatogr A* 2008; 208: 242-245.
82. Ohyama K et al: Investigation of Novel Peptide Chiral Selectors Prepared by Solid-Phase Synthesis with a *tert*-Butoxycarbonyl Amino Acid. *Chromatogr* 2009; 70: 1501-1504.
83. Luo MTJ et al: Engineering Crystalline Architecture with Supramolecular Tapes: Studies on Secondary Donor-Acceptor Interactions in Cocrystals of the Cyclic Dipeptide of Glycine. *Cryst Growth Des* 2002; 2: 337-350.
84. Povzetek glavnih značilnosti zdravila (SmPC): Coryol (uč. carvedilolum), Baza podatkov o zdravilih (www.zdravila.net), 2011.
85. Hildesheim J, Finogueev S et al: Carvedilol. WIPO Patent Application, WO/200/00216A1, 2001.
86. Beyer P, Reinholz E: Thermodynamically stable modification of 1-(4-carbazolyloxy)-3-[2-(2-methoxyphenoxy)ethylamino]-2-propanole, process for its preparation and pharmaceutical compositions containing it. European Patent Application, EP0893440, 1999.
87. Zupet R, Grčman M, Smrkolj M: New crystalline forms of carvedilol. WIPO Patent Application, WO/2005/021504, 2005.
88. The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 13th Ed., Merck&Co., Inc., Whitehouse Station, New York, 2001.
89. Kovačič B, Vrečer F, Planinšek O: Solubility determination of a drug by laser diffraction method. *Farm vestn* 2008, 59: 129-130.
90. Kovačič B, Vrečer F, Planinšek O: Solid Dispersions of carvedilol with porous silica. *Chem Pharm Bull* 2011; 59: 427-433.

PRILOGA

V primeru, da podatki v preglednici VIII niso označeni z * ali kakšno drugo oznako, se podatki nanašajo na celotno celico, npr. v prvi vrstici se eugenol, ferulična kisl., izoferulična kisl. in citronska kisl. nanašajo tako na norfloksacin kot na ciprofloksacin, medtem ko se kvercetin dehidrat, kofein in maleinska kisl. nanašajo le na norfloksacin, tartarna kisl. se nanaša le na ciprofloksacin.

V preglednici VIII so navedene kratice, ki pomenijo naslednje: ACN – acetonitril, ASA – acetilsalicilna kislina, BU – biološka uporabnost, DMF – dimetilformamid, DMSO – dimetilsulfoksid, EtOH – etanol, FO – farmacevtska oblika, kisl. – kislina., krist. – kristalizacija, MeOH – metanol, NSAID – nesteroidne protirevmatske učinkovine, PEG – polietilenglikol, TFE – trifluoroetanol, THF – tetrahidrofuran, TRIS – 2-amino-2-hidroksimetil-propan-1,3-diol, ZU – zdravilna učinkovina.

Preglednica VIII. Primeri patentov zaščite učinkovin v obliki kokristalov.

UČINKOVINA	TVOREC KOKRISTALA	METODA	IZBOLJŠAVA	OPOMBE	LITERATURNI VIR
norfloksacin*, ciprofloksacin**	eugenol, ferulična kisl., izoferulična kisl., citronska kisl., *kvercetinohidrat, *kofein, *maleinska kisl., **tartarna kisl.	mletje (dodatek MeOH), NATO krist. iz MeOH	↑topnost, hitrost raztapljanja, stabilnost; ↑atb aktivnost	dokazano	WO/2009/136408A1
metronidazol	2,5-dihidroksibenzojska kisl., galična kisl.	ZU v TFE, tvorec v ACN, združimo suspenziji, segrevamo, nato ohlajamo ALI mletje	kokristal se raztaplja počasneje	dokazano	WO/2007/067727A2
imipraminijev klorid	1,2,2-trimetilciklopentan-1,3- dikarboksilna kisl. *, fumarna kisl. **, 1-hidroksi-2-naftolna kisl. **	*Koflerjeva tehnika, mletje neuspešno, **krist. iz MeOH ALI mletje	kokristal se raztaplja počasneje	dokazano	WO/2007/067727A2
karbamazepin	saharin (oblika I*, oblika II"), nikotinamid (oblika I**, oblika II""), 1,3,5-benzotrikarboksilna kisl. (oblika I***, oblika II""""), p-ftalaldehid***, 2,6-piridin karboksilne kisl.", 5- nitroizoftalna kisl. """"", 1,3,5,7- adamantan tetrakarboksilna kisl. """"", benzokinon****	krist. iz: *zmesi izopropilacetat/heptan, "EtOH, **toluena ali acetona ali izopropilacetata, ""DMSO ali MeOH ali EtOH, ***MeOH, """"zmesi MeOH/diklorometan, """"MeOH ali EtOH, ****MeOH ali THF; ALI ""mletje	*zmanjšana variabilnost kristalne strukture	dokazano	EP1608339A1
celekoksib	nikotinamid*, 18 crown 6**	*odparevanje acetona dvakrat, **dietileter	*spremenjen profil raztapljanja, kokristalizacija ZU, ki ne morejo ali težko tvorijo soli, izboljššan higroskopični profil	dokazano	EP1608339A1
olanzapin	nikotinamid (oblika I*, oblika II**, oblika III**)	*krist. iz 1,2-dikloroetana, **krist. iz izopropilacetata	izboljšava ni eksplicitno podana		EP1608339A1
cis-itrakonazol	sukcinska kisl. *, malična kisl. **, fumarna kisl. ***, tartarna kisl. *	*krist. iz THF, nato iz izopropilacetata (metoda sejanja kokristalov), **krist. iz THF (metoda sejanja kokristalov) ***krist. iz THF	spremenjen profil raztapljanja	dokazano	EP1608339A1

cis-itakonazolijev klorid	tartarna kisl.	krist. iz dioksana, nato iz terc-butil metil etra	izboljšava ni eksplicitno podana		EP1608339A1
modafinil	malonska kisl.*, benzamid**, mandljeva kisl.***, glikolna kisl.***, fumarna kisl.**, maleinska kisl.*	*krist. iz očetne kisline, **krist. iz 1,2-dikloroetana, ***krist. iz acetona	kokristal modafinil : malonska kisl.: $\uparrow t_{1/2}$, BU	dokazano	EP1608339A1
karbamazepin	glikolamid*, laktamid**	*krist. iz ACN ali etilacetata, **krist. iz ACN	\uparrow topnost", \uparrow hitrost raztapljanja \rightarrow \uparrow biološka uporabnost, \downarrow doze, izboljšanje farmakokin. last.	"dokazano	WO/2008/108639A1
flurirtinijev klorid	maleinska kisl.	krist. iz ACN ALI mletje	\uparrow hitrost raztapljanja v primerjavi s flurirtinijevim maleatom	dokazano	WO/2010/01734A2
C-glikozidni derivat (glucitol)	L-prolin	krist. iz EtOH, NATO iz zmesi EtOH/voda	konstantna kvaliteta, dobra stabilnost, ni abs.vlage	dokazano	EP2009010A1
aripiprazol	fumarna kisl.	razt. v DMSO ali DMF, nato dodatek ACN kot netopila	\uparrow topnost, stabilnost"	"za stabilnost narejeni poskusi, za topnost ni dokazov	US20090054455
modafinil	sukcinska kisl., fumarna kisl., sukcinska kisl.:fumarna kisl.*	mletje (dodatek acetona)	* izboljšana BU (\uparrow AUC, \downarrow Tmax, \uparrow Cmax), \uparrow plaz. konc. kot nevtralna oblika ali sama sol; izboljšana učinkovitost, \uparrow stabilnost ZU	mešani kokristali ; le za stabilnost narejeni testi, ostalo ni dokazov	7671093
5-fluorouracil, uracil, 5-fluorouracil:uracil	urea	mletje	* izboljšana BU (\uparrow AUC, \downarrow Tmax, \uparrow Cmax), \uparrow plaz. konc. kot nevtralna oblika ali sama sol); izboljšana učinkovitost, \uparrow stabilnost ZU	mešani kokristali; le za stabilnost narejeni testi, ostalo ni dokazov	7671093
linezolid	benzojska kisl.	mletje (dodatek MeOH) ALI mletje ALI taljenje (brez topila/s topilom) ALI krist. iz MeOH ali THF ali diklorometana (sejanje kokristalov) ALI krist. iz diklorometana (nato dodatek heksana ali heptana)	\uparrow topnost, stabilnost	dokazano	WO/2009/140466A2
linezolid	4-hidroksi benzojska kisl.*, 1,5-naftalen disulfonska kisl., salicilna kisl.	taljenje	\uparrow topnost, * \uparrow stabilnost	dokazano	WO/2009/140466A2
epalrestat	angl. "choline hydrogen diacid"	krist. iz acetona ALI krist. iz absol. EtOH	\uparrow topnost v vodi (kot prosta kisl.), manjši odmerki	topnost dokazana	WO/2010/028132A2

epalrestat	angl. "betaine hydrogen diacid"	krist. iz MeOH ALI krist. iz vode in THF	sinergističen učinek (2 učinkovini), ↑hitrost raztapljanja v vodi, manjši odmerki	hitrost raztapljanja dokazana	WO/2010/028132A2
stavudin	melamin, 2-aminopiridin	krist. iz zmesi EtOH/voda	↑topnost, raztapljanje, BU; izboljšana učinkovitost; izboljšana stabilnost	ni dokazano	7803786
gliburit	TRIS	krist. iz MeOH	↑topnost, raztapljanje, BU; izboljšana učinkovitost; izboljšana stabilnost	ni dokazano	7803786
piracetam	2,5-dihidroksibenzojska kisl., 4-hidroksibenzojska kisl.	krist. iz ACN	↑topnost, raztapljanje, BU; izboljšana učinkovitost; izboljšana stabilnost	ni dokazano	7803786
karbamazepin	cinamična kisl. *, ASA*, 4-aminobenzojska kisl. **, 4-aminobenzojska kisl. : voda***	*krist. iz etilacetata, **krist. iz MeOH, ***krist. iz EtOH	↑topnost, raztapljanje, BU; izboljšana učinkovitost; izboljšana stabilnost	ni dokazano	7803786
flukonazolijev maleat	maleinska kisl.	krist. iz etilacetata	↑topnost, raztapljanje, BU; izboljšana učinkovitost; izboljšana stabilnost	ni dokazano	7803786
4-(6-(4-(trifluorometil)fenil)pirimidin-4-iloksi)benzo[d]tiazol-2-amin	sorbinska kislina	mletje (dodatek topil) ALI krist. iz razl. topil	↑BU	dokazano	US20080051453
etravirin (TMC125)	nikotinamid	krist. iz kloroforma	izboljšan profil raztapljanja, ↑hitrost raztapljanja v vodnem mediju (dokazano)	v primerjavi z amorfno obliko: boljše plovne lastnosti, lažja priprava, ↑fizikalna stabilnost, profil raztapljanja primerljiv	WO/2010/112411
tramadol	NSAID (naproksen)	krist. iz izopropanola (sejanje kokristalov) ALI krist. iz MeOH, nato diizopropil eter ALI krist. iz MeOH (nastanek tramadol : naproksen metanol solvata)	↑topnost, učinkovitost, raztapljanje, BU, stabilnost, higroskopsnost, ↓variabilnost kristalne oblike, Δmorfologija	ni dokazano	EP2177215A1
tramadolov klorid	paracetamol : voda	krist. iz etilacetata, dodatek vode ALI krist. iz ACN, dodatek vode (sejanje kokristalov)	ni aglomeratov, ↓higroskopsnost, ↑kemijska stabilnost; ↓variabilnost v krvnih konc. pri posamezniku in med posamezniki, dobra hitrost absorpcije, ↑C _{max} , ↓T _{max} , Δt _{1/2}	lahko tudi brez vode 1:1(tramadol:paracetamol); ni dokazov za izboljšave	EP2199274A1

niacin (nikotinska kislina) - evgenol	evgenol*, dihidrat oksalne kisl. **	*krist. iz DMSO, **mletje (dodatek MeOH)	*izboljšane nekatere farmakokin. lastnosti: Tmax, Cmax, AUC _∞ , t _{1/2} (dokazano)	estri niacina (z evgenolom, z vanilinom, z apocininom, s ferulično kisl., z izoferulično kisl., z dihidroevgenolom, z evgenol epoksidom) + tvorec (evgenol, dihidrat oksalne kisl., tartarna kisl.)	WO/2010/005581A1
indiplon	HBr	razt. v očetni kislini, krist. iz dietil etra	potrebne nižje doze kokristala za doseg iste plazemske konc. ZU kot prosta baza	dokazano	WO/2008/024151A2
5-fenilpirazolil-1-benzensulfonamidi	PEG-i	krist. iz EtOH ALI krist. iz vode	↑stabilnost pri sobnih pogojih (v nasprotju s fizikalno nestabilnostjo trdne disperzije iz amorfne oblike) → omogočena je izdelava stabilnih formulacij, tablet, praškov,...	dokazano	WO/2006/024930A1
ASA	teanin	mletje (dodatek MeOH) ALI krist. iz vode	↑topnost v vodi (dokazano), hitrost raztapljanja, okrepljena stabilnost in BU; učinek obeh komponent (obe ZU)	nastanejo v vodi topni kokristali (za i.v.aplikacijo)	US20100286099
karbamazepin	saharin	nova metoda-preko uravn. pH-ja (ni treba mletja, izhlap. iz razt., Δ temp.)	po tej metodi kokristali nastanejo hitro	ena komp. mora biti v ioniziranem stanju	US20080132419
karbamazepin	hidrat 4-aminobenzojske kisline	nova metoda-preko uravn. pH-ja (ni treba mletja, izhlap. iz razt., Δ temp.)	po tej metodi kokristali nastanejo hitro	ena komp. mora biti v ioniziranem stanju	US20080132419
bioaditivi			↑raztapljanje, BU, učinkovitost	ni dokazano	US20100204204
kvercetin : kofein : MeOH		krist. iz MeOH	↑topnost	dokazano	
kvercetin : izonikotinamid		krist. iz MeOH	↑topnost	dokazano	
hesperetin : izonikotinamid		krist. iz MeOH	↑topnost	dokazano	
hesperetin : nikotinska kisl.		krist. iz MeOH	↑topnost	dokazano	
sarkozin : askorbinska kisl.		krist. iz MeOH ALI mletje (dodatek razl.topil: DMF, voda, mravljična kisl., očetna kisl., MeOH)	izboljšava ni eksplicitno podana		

askorbinska kisl. : nikotinska kisl.		krist. iz MeOH ALI mletje (dodatek razl.topil: DMF, voda, mravljična kisl., očetna kisl., MeOH)	izboljšava ni eksplicitno podana		
ferulična kisl. : baklofen		krist. iz zmesi topil EtOH/voda	izboljšava ni eksplicitno podana		
galna kisl. : kofein		mletje (dodatek MeOH)	izboljšava ni eksplicitno podana		
galna kisl. : kofein : 1/2voda		krist. iz MeOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
galna kisl. : nikotinska kisl. : 3voda		krist. iz MeOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
galna kisl. : teobromin : voda		krist. iz zmesi topil EtOH/voda ALI mletje	izboljšava ni eksplicitno podana		
askorbinska kisl. : nikotinamid		krist. iz MeOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
askorbinska kisl. : izonikotinamid		krist. iz MeOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
askorbinska kisl. : nikotinamid : EtOH		krist. iz EtOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
epigalokatehingalat : izonikotinamid : voda		krist. iz vode	izboljšava ni eksplicitno podana		
elagična kisl. : teofilin : voda		krist. iz EtOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
citronska kisl. : izonikotinamid		krist. iz MeOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
3,4-dihidroksibenzojska kisl. : kaprolaktam		krist. iz zmesi topil MeOH/voda	izboljšava ni eksplicitno podana		
3,4-dihidroksibenzojska kisl. : izonikotinamid		krist. iz zmesi topil MeOH/voda	izboljšava ni eksplicitno podana		
lamivudin : zidovudin : voda		mletje (dodatek: EtOH/voda ali MeOH/voda ali aceton/voda ali acetonitril/voda ali voda) ALI krist. iz: zmesi MeOH/voda ali zmesi EtOH/voda ali zmesi aceton/voda	fizikalno stabilna oblika, boljše pretočne lastnosti in navidezna gostota	dokazano	WO/2009/116055A1
O-desmetilvenlafaksin	sukcinska kisl.	krist. iz diizopropil etra ALI krist. iz dietil etra	dobra pretočnost in raztapljanje, stabilnost v vodnem mediju, visoka čistota kokristalov	čistota dokazana, ostalo ne	US20090246284
antidiabetiki (metformin)	kvercentin	mletje	↑topnost kvercentina (to je v povezavi z vodotopnostjo metformina), tališče kokristala je vmes med tališči obeh komponent, ↓plaz.konc.glukoze in inzulina; vse dokazano	sinergistični farmacevtski kokristali	WO/2010/134085A1
topiramet	kofein	taljenje	večina patenta se nanaša na soli; ni navedenih izboljšav za kokristale		7351695

duloksetin	S-naproxen*, ibuprofen, pregabalin, tramadol, N-desmetiltramadol	*krist. iz EtOH	majhni delci, ni aglomeratov, ↓ali majhna higroskopska, pomagajo pri FO s kontr.spr., ↑kem.stab., ↓variabilnost v krvnih konc. pri posamezniku in med posamezniki, dobra hitrost absorpcije, ↑Cmax, ↓Tmax, Δt _{1/2} (nič ni dokazano)	tvorci izbrani med učinkovinami z analg. učinkovitostjo (komplementarnost)	EP212362A1
zotepinijev klorid : benzojska kisl. (1:1)		krist. iz ACN ALI krist. iz MeOH ALI mletje ALI kriomletje	topnost v vodnem mediju in hitrost raztapljanja kokristala med prosto bazo in soljo, tališče višje (119°C) kot tališče proste baze (92°C)	dokazano	WO/2009/152347A3
zotepinijev klorid : benzojska kisl. (2:1)		krist. iz ACN	topnost v vodnem mediju in hitrost raztapljanja kokristala med kokristalom 1:1 in soljo, tališče višje (104°C) kot tališče proste baze (92°C)	dokazane izboljšave; v prisotnosti vode se pretvori v kokristal 1:1	WO/2009/152347A3
VX-950	4-hidroksibenzojska kisl.	krist. iz diklorometana IN (terc-butil metil etra ali ACN ali etilacetata ali acetona ali THF (dodatek netopila n-heptana)); tudi krist. iz diklorometana in terc-butil metil etra (dodatek netopila in sejanje kokristalov)	↑topnost → okrepljena absorpcija, tudi testiranja in vitro in in vivo boljša	dokazano	WO/2010/02792A1
VX-950	3-metoksi-4-hidroksibenzojska kisl.*"#, 2,4-dihidroksibenzojska kisl.*"#, 2,5-dihidroksibenzojska kisl.#	*mletje (dodatek topila, npr. metil etil ketona ali etilacetata) ALI "taljenje ALI #krist. iz zmesi diklorometan/ACN	↑topnost, raztapljanje, stabilnost; ↑navidezna gostota kokristalov napram amorfni obliki → ↓masa FO → manjše breme jemanja tablet → izboljšana vodljivost pacienta	topnost in stabilnost dokazani, ostalo ni dokazano	WO/2009/032198A1
VX-950	salicilna kisl.*, 4-aminosalicilna kisl.**, oksalna kisl.***	mletje (*dodatek metil etil ketona, **dodatek ACN, ***dodatek razl. topil, npr. etilacetata, ACN, vode,...) ALI taljenje ALI krist. iz zmesi toluen/ACN	↑topnost, raztapljanje, stabilnost; ↑navidezna gostota kokristalov napram amorfni obliki → ↓masa FO → manjše breme jemanja tablet → izboljšana vodljivost pacienta	topnost in stabilnost: dokazano za salicilno kisl. In 4-aminosalicilno kisl., ostalo ni dokazano	WO/2007/098270A2

VX-950	4-hidroksibenzojska kisl.*, 4-aminosalicilna kisl.**, fenilalanin, treonin , tartarna kisl., sukcinacetat, prolin , metil-4-hidroksibenzoat, biotin	*mletje (dodatek topila, npr. metil etil ketona ali etilacetata) ALI taljenje ALI krist. iz etilacetata ali ACN ali zmesi diklorometan/metil terc-butyl eter; **krist. iz ACN	↑topnost, raztapljanje, stabilnost; ↑navidezna gostota kokristalov napram amorfni obliki → ↓masa FO → manjše breme jemanja tablet → izboljšana vodljivost pacienta	topnost in stabilnost:dokazano za 4-hidroksibenzojsko kisl., ostalo ni dokazano	WO/2008/106151A1
(2R-trans)-6-kloro-5-[[4-[(4-fluorofenil)metil]-2,5-dimetil-1-piperazinil]karbonil]-N,N,1-trimetil-alfa-okso-1H-indol-3-acetamid klorid	urea	krist. iz izopropilacetata	splošno za vse tvorilce: topnost, raztapljanje, BU, procesabilnost, Cmax, Tmax (ni dokazano)	učinkovina za zdravljenje multiplega mieloma, metastaziranega raka, b. kosti, psoriaze, revmatoidnega artritisa	WO/2008/013823A2
(2R-trans)-6-kloro-5-[[4-[(4-fluorofenil)metil]-2,5-dimetil-1-piperazinil]karbonil]-N,N,1-trimetil-alfa-okso-1H-indol-3-acetamid klorid	arginin	mletje (brez topila/heksan)			WO/2008/013823A2
(2R-trans)-6-kloro-5-[[4-[(4-fluorofenil)metil]-2,5-dimetil-1-piperazinil]karbonil]-N,N,1-trimetil-alfa-okso-1H-indol-3-acetamid	salicilna kisl.	krist. iz ACN			WO/2008/013823A2
(2R-trans)-6-kloro-5-[[4-[(4-fluorofenil)metil]-2,5-dimetil-1-piperazinil]karbonil]-N,N,1-trimetil-alfa-okso-1H-indol-3-acetamid	4-aminosalicilna kisl.	krist. iz ACN			WO/2008/013823A2

(2R-trans)-6-kloro-5-[[4-[(4-fluorofenil)metil]-2,5-dimetil-1-piperazinil]karbonil]-N,N,1-trimetil-alfa-okso-1H-indol-3-acetamid	benzojska kisl.	krist. iz ACN			WO/2008/013823A2
NVX-144 (N'-(7-fluoropirolo[1,2a]quinoksalin-4-il)pirazin-2-karbohidrazid)	oksalna kisl.	krist. iz vode (v prisotnosti dušika)	↑BU kokristala v primerjavi s prosto bazo; absorpcija: ni razlik med kokristalom in prosto bazo, če ju apliciramo v obliki razt., boljša abs. kokristala kot proste baze, če ju apliciramo v obliki suspenzije	nastane NVX-412 (kokristal); izboljšave dokazane	WO/2009/126743A1
polioli (ksilitol, manitol, sorbitol, eritriol)	hidrogeniran maltodekstrin	taljenje ALI krist. iz vode	sladilo: brez vsebnosti saharoze, ↓senzorično hladilni učinek (posledica zvečanja toplote pri raztapljanju)*, izboljšanje plovnih lastnosti, ↓higroskopsnost, izboljšanje kristaliničnosti, ↑topnost, ↑Tg	*dokazano, ostalo ni dokazano	6875460
modafinil			hočeš ↑učinkovitost → moraš Δ topnost, raztapljanje, BU, stabilnost; slaba topnost modafinila v vodi → s kokristali lahko izboljšaš plazemsko in serumsko konc., učinkovitost	ni dokazano	7566805
modafinil	malonska kisl.	krist. iz očetne kisl. ALI mletje (brez topil/z acetonom)	↑AUC, BU, Cmax, hitrejšo sproščanje modafinila iz FO	dokazano	
modafinil	glikolna kisl.	krist. iz acetona ALI krist. iz zmesi aceton/MeOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	maleinska kisl.	krist. iz očetne kisl., nastane amorf, nato čez 2 dni kokristal	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	L-tartarna kisl.	krist. iz MeOH	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil (monohidrat)	citronska kisl.	mletje, nato krist. iz acetona, nato krist. iz vode ALI mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	sukcinska kisl.	krist. iz MeOH ALI krist. iz acetona	izboljšava ni eksplicitno podana		

modafinil	DL-tartarna kisl.	krist. iz acetona	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	fumarna kisl. (oblika 1)	mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	fumarna kisl. (oblika 2)	mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	2,5-dihidroksibenzojska kisl.	mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	oksalna kisl.	mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
modafinil	1-hidroksi-2-naftolna kisl.	mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	malonska kisl.	mletje, NATO segrevanje	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	sukcinska kisl.	mletje, NATO segrevanje	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	citronska kisl.	mletje	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	DL-tartarna kisl.	krist. iz diklorometana ALI krist. iz nitrometana	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	1-hidroksi-2-naftolna kisl.	krist. iz o-ksilena ALI krist. iz nitrometana	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	orotna kisl.	krist. iz acetona	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	2,5-dihidroksibenzojska kisl.	mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	glutarna kisl.	mletje (dodatek benzil alkohola, acetona ali vode)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	citronska kisl.	mletje (dodatek benzil alkohola ali acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	L-tartarna kisl.	mletje (dodatek benzil alkohola, acetona ali vode)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	oksalna kisl.	mletje (dodatek benzil alkohola, acetona ali vode)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	palmitinska kisl.	mletje (dodatek benzil alkohola)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	L-prolin	mletje (dodatek benzil alkohola, acetona ali MeOH)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	salicilna kisl.	mletje (dodatek benzil alkohola)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	laurinska kisl.	mletje (dodatek benzil alkohola, acetona ali MeOH)	izboljšava ni eksplicitno podana		
R-(-)modafinil	jabolčna kisl.	mletje (dodatek acetona)	izboljšava ni eksplicitno podana		
lestaurtinib	maleinska kisl.	mletje, nato krist. iz diklorometana	izboljšava ni eksplicitno podana		WO/2009/091594

lestaurtinib	malonska kisl.	mletje, nato krist. iz diklorometana ALI krist. iz diklorometana	izboljšava ni eksplicitno podana		WO/2009/091594
lestaurtinib	oksalna kisl.	mletje, nato krist. iz ACN ALI krist. iz ACN	izboljšava ni eksplicitno podana		WO/2009/091594
lestaurtinib	glutarna kisl.	mletje, nato krist. iz toluena ALI krist. iz toluena	izboljšava ni eksplicitno podana		WO/2009/091594
lestaurtinib	hipurna kisl.	krist. iz metoksibenzena	izboljšava ni eksplicitno podana		WO/2009/091594
lestaurtinib	urea	mletje, nato krist. iz terc-butil metil etra	izboljšava ni eksplicitno podana		WO/2009/091594
izovaleramid	mandljeva kisl.*", maleinska kisl.", glutarna kisl.", 2,5-dihidroksibenzojska kisl.*", citronska kisl."	*krist. iz MeOH, "mletje	↑raztapljanje, stabilnost, topnost, učinkovitost; ↓higroskopnost	ni dokazano	US20080287542
konazoli (itra-, posa-, saper-)	KISL.-E				7078526, 7446107
cis-itrakonal	fumarna kisl.	krist. iz THF	↑ topnost → izboljšanje absorpcije	dokazano	
cis-itrakonal	L-tartarna kisl.	krist. iz THF, dodatek izopropilacetata (sejanje kokristalov)	↑ topnost → izboljšanje absorpcije	dokazano	
cis-itrakonal	DL-tartarna kisl.	krist. iz zmesi THF/voda, dodatek izopropilacetata (sejanje kokristalov)	↑ topnost → izboljšanje absorpcije	dokazano	
cis-itrakonal	succinska kisl.	krist. iz THF, dodatek izopropilacetata (sejanje kokristalov)	↑ topnost → izboljšanje absorpcije	dokazano	
cis-itrakonal	jabolčna kisl.	krist. iz THF, dodatek izopropilacetata (sejanje kokristalov)	↑ topnost → izboljšanje absorpcije	dokazano	
cis-itrakonalov klorid	tartarna kisl.	krist. iz dioksana (sejanje kokristalov)	izboljšava ni eksplicitno podana		
cis-itrakonalov tosilat	tartarna kisl.	krist. iz 1,2-dikloroetana	izboljšava ni eksplicitno podana		

posakonazol	dikarboksilne kisl.	krist. iz THF ali dioksana, nato dodatek netopila	izboljšava ni eksplicitno podana		
saperkonazol	dikarboksilne kisl.	krist. iz THF ali dioksana, nato dodatek netopila	izboljšava ni eksplicitno podana		
tirozini kinazni inhibitorji	veliko tvorcev, naštetih le nekateri primeri		kokristal predstavlja možnost: kako formulirati uč.-zelo hidrofočno in z močno željo po agregaciji-v fiziološko okolje; ↑topnost in stabilnost		WO/2010/081443
imatinib mesilat	gvanidinijev klorid*, L-argininijev klorid*, N-metilglukaminijev klorid*, fruktoza*, glukoza*, laktoza**, polilactid-poliglikolid***, alginska kisl.*, pektin*, betaglukan*"#, dekstran#	*krist. iz vode, "krist. iz MeOH, **krist. iz zmesi voda/EtOH, ***krist. iz zmesi MeOH/EtOH (dodatek CO ₂), #krist. iz zmesi voda/MeOH			
imatinib mesilat	nikotinamid*, askorbinska kisl.**	*krist. iz vode (dodan PVP), **krist. iz vode	↑kem. stabilnost	dokazano	
lapatinib ditosilat	gvanidinijev klorid	krist. iz vode			
sunitinib	fruktoza in laktoza	krist. iz zmesi voda/EtOH		produkt sunitinib : saharid	
sunitinib	laktoza	krist. iz MeOH	↑kem. stabilnost	dokazano	
gosipol* ali (-)-gosipol**	ocetna kisl.	*gosipol raztopljen v acetonu, dodana ocetna kisl., odparevanje acetona, 4X rekristalizacija, **krist. iz acetona	sinergizem z drugimi protirakavimi učinkovinami (ni dokazano)	piše v abstraktu: priprava iz kokristala gosipol:aceton (zamenjava acetona z ocetno kisl.)	7557251, 7432300, 7342046
gosipol	ocetna kisl.	R-gosipol L-fenilalaninol diamin + ocetna kisl. → gosipol:ocetna kisl. kokristal	izboljšava ni eksplicitno podana	metoda za pripravo R-gosipol L-fenilalaninol diamina (ta se up kot intermediat pri pripravi kokristala gosipol:ocetna kisl.)	7696372
LSN487355	fumarna kisl.*, metansulfonska kisl.**	*krist. iz nitrometana, **krist. iz MeOH ali zmesi MeOH/vode ali hidrogen bromida	nastanek v lipidih topne oblike	triciklične protitumorne spojine	US20060004037
LSN509207	1-hidroksi-2-naftolna kisl.	krist. iz 1,2-dikloroetana	nastanek v lipidih topne oblike	triciklične protitumorne spojine	US20060004037

olanzapin	nikotinamid (oblika I*, oblika II**, oblika III**)	*krist. iz 1,2-dikloroetana, **krist. iz izopropilacetata	topna oblika učinkovine; stabilnost, hitro se jih izdelava, ↑topnost (izboljšave našete na splošno: tako za soli, solvate kot kokristale)	ni dokazano	US20060223794
saperkonazol	tartarna kisl.*, sukcinska kisl.**, jabolčna kisl.***, fumarna kisl.***, glutarna kisl.***	*krist. iz THF ali 1,4-dioksana, **krist. iz dioksana, nato še dodatek 1,2-dikloroetana, ***krist. iz dioksana	↑topnosti, raztapljanja, BU; izboljšanje dose-response, stabilnosti; ↓higroskopnosti (vse opisano, ampak nič dokazano)	topna oblika učinkovine	US20070293674
(2S)-2-[(4S)-4-(2,2-difluorovinil)-2-oksopirrolidinil]butanamid : MgCl ₂ : H ₂ O (1:1/2:2)		krist. iz MeOH ALI krist. iz MeOH, nato terc-butyl metil eter	↑tališče kokristala v primerjavi z UČ (dokazano)	skupina pirolidinoni	US20100240728
((2S)-2-((4R)-2-okso-4-n-propil-1-pirrolidinil) butanamid : MgCl ₂ : H ₂ O (1:1/2:2)		krist. iz vode ALI krist. iz MeOH, nato terc-butyl metil eter	↑tališče kokristala v primerjavi z UČ (dokazano)	skupina pirolidinoni	US20100240728
tenofovir (disoproksil)	fumarna kisl.	krist. iz razt. (topila: THF/voda, 2,2,2-trifluoroetanol, aceton, diklorometan, nitrometan, voda) ALI krist. z dodatkom netopila ALI sejanje kokristalov	↑stabilnost, ↓higroskopnost, bioekvivalenca* (v primerjavi s tenofovir disoproksil fumaratom - soljo)	*dokazano, ostalo ni dokazano	WO/2008/143500A4
AZD1152	maleinska kisl.	krist. iz MeOH ALI AZD1152 raztopimo v DMSO, maleinsko kisl. v MeOH, združimo, odparevanje topil ALI krist. iz DMSO (dodatek netopila ACN)	nehigroskopna oblika (temp. in relativna vlaga na kokristal dosti manj vplivata kot pa na prosto obliko in na sol); potrebno je manjše kontroliranje rel.vlage pri procesih (lažja proizvodnja kokristala), prisotnih manj nečistot	aurora kinase inhibitor, predzdravilo	7625910
BTG1640	fumarna kisl.	krist. iz acetona ALI terc-butyl metil etra ALI diizopropil etra ALI THF ALI 1-butanola	pridobivanje z enostavnim postopkom, enostaven prenos na industrijsko raven, izognemo se dolgotrajnemu in dragemu postopku kristalizacije in čiščenja, dobimo stabilno kristalno obliko	ni dokazano	EP2112142A1
glukokortikoidni mimitiki			izboljšava ni eksplicitno podana		US20090325988
(R)-2-[3-(5-etansulfonil-1H-pirololo[2,3-c]piridin-2-ilmetil)-4,4,4-	fosforna kisl.	krist. iz metil izobutil ketona ALI krist. iz zmesi 2-butanol/heptan (sejanje kokristalov)	izboljšava ni eksplicitno podana		

trifluoro-3-hidroksi-1,1-dimetilbutil]-5-fluorobenzamid					
(R)-2-[3-(5-etansulfonil-1H-pirololo[2,3-c]piridin-2-ilmetil)-4,4,4-trifluoro-3-hidroksi-1,1-dimetilbutil]benzamid	fosforna kisl.	krist. iz metil izobutil ketona ALI krist. iz metil izobutil ketona (sejanje kokristalov)	izboljšava ni eksplicitno podana		
(R)-2-[3-(5-etansulfonil-1H-pirololo[2,3-c]piridin-2-ilmetil)-4,4,4-trifluoro-3-hidroksi-1,1-dimetilbutil]benzamid	izonikotinamid	krist. iz EtOH ALI krist. iz EtOH (sejanje kokristalov)	izboljšava ni eksplicitno podana		
5-fluoro-2-[(R)-4,4,4-trifluoro-3-hidroksi-3-(5-metansulfonil-1H-pirololo[2,3-c]piridin-2-ilmetil)-1,1-dimetilbutil]benzamid	fosforna kisl.	krist. iz 2-butanona ALI krist. iz 2-butanona (sejanje kokristalov)	izboljšava ni eksplicitno podana		
5-fluoro-2-[(R)-4,4,4-trifluoro-3-hidroksi-3-(5-metansulfonil-1H-pirololo[2,3-c]piridin-2-ilmetil)-1,1-dimetilbutil]benzamid	očetna kisl.	krist. iz očetne kisl. ALI krist. iz očetne kisl. (sejanje kokristalov)	izboljšava ni eksplicitno podana		
sukroza	ciklodekstrin	kokristalizacija: krist. iz vode, NATO enkapsulacija	izboljšava ni eksplicitno podana	enkapsulacija kokristalov zaradi APM stabilnosti; enkapsulacija mora biti izvedena tako, da ne pride do termične degradacije sukroze	US20060068059

tonabresat	glutarna kisl., citronska kisl.	počasna evaporacija ali/in sonifikacija (z ultrazvokom) raztopine	↑hitrost raztapljanja in hitrost absorpcije	ni dokazano; kokristali le omenjeni	WO/2009/147441A2
sumatriptan			topna oblika učinkovine	kokristali le omenjeni kot možnost	WO/2004/076403A1
tizanidin				kokristali le omenjeni kot možnost	WO/2008/027419A2
aliskiren hemifumarat				kokristali le omenjeni	WO/2010/089105A2

