

# Kokristali zdravilnih učinkovin

## Co-crystals of active pharmaceutical ingredients

Borut Kovačič, Odon Planinšek, Franc Vrečer

**Povzetek:** Zdravilne učinkovine lahko obstajajo v trdnem stanju v različnih oblikah, ki se med seboj razlikujejo po fizikalno-kemijskih in farmakoloških lastnostih. Lastnosti zdravilne učinkovine na molekularnem nivoju tradicionalno spreminjamo s tvorbo soli, izolacijo različnih polimorfnih, psevdopolimorfnih ali amorfne oblike. Zadnja leta se kot dodatna možnost uveljavlja izdelava farmacevtskih kokristalov. Z njimi lahko pridobimo nove kristalne strukture zdravilne učinkovine in s tem spremenimo njene lastnosti, ki so pomembne za razvoj in učinkovitost zdravila: topnost, hitrost raztapljanja, temperatura tališča, higroskopnost, kemijska stabilnost, mehanske lastnosti itd. Farmacevtski kokristal je sestavljen iz zdravilne učinkovine in tvorilca kokristala, ki je lahko ena od t.i. »varnih substanc« oziroma splošno uporabljena farmacevtska pomožna snov. Kokristali so zanimivi tudi z vidika intelektualne lastnine, saj kokristalizirana zdravilna učinkovina lahko v primerjavi s čisto obliko izkazuje izboljšane lastnosti, hkrati pa zaradi različnosti strukture potencialno zadostuje kriteriju novosti in inventivnosti, kar pomeni, da jih farmacevtsko podjetje lahko patentno zaščiti in s tem vpliva na situacijo na trgu zdravil.

**Ključne besede:** kokristalizacija, farmacevtski kokristali, lastnosti snovi v trdnem stanju.

**Abstract:** Active pharmaceutical ingredients (API) are found in different solid state forms, which differ in their physicochemical and pharmacological properties. Properties of API on molecular scale has been traditionally limited to salt formation, isolation of different polymorphs, pseudopolymorphs or amorphous form, but in the last few years formation of pharmaceutical cocrystals has emerged as an additional alternative. By preparing pharmaceutical cocrystals new crystal forms are created for certain drug molecule and they can lead to altering the properties, which are important for drug development and efficacy: solubility, dissolution rate, melting point, hygroscopicity, chemical stability, mechanical properties etc. Pharmaceutical cocrystal is composed of API and cocrystal former, that can be chosen among so called »safe substances« or any other widely used pharmaceutical excipient. Cocrystals are also gaining interest from the point of view of intellectual property. Cocrystallized API can exhibit improved properties and potentially satisfies the criteria of novelty and inventiveness, which means that a pharmaceutical company can issue a patent and influence the drug market.

**Key words:** cocrystallization, pharmaceutical cocrystal, solid-state properties.

## 1 Uvod

Zdravilne učinkovine so pri sobnih pogojih večinoma v trdnem agregatnem stanju v kristalni obliki in so najpogosteje vgrajene v trdne farmacevtske oblike – tablete ali kapsule. Farmakokinetične lastnosti zdravilne učinkovine so pogosto odvisne od njenih fizikalno-kemijskih lastnosti, znano pa je, da lahko posamezna zdravilna učinkovina obstaja v različnih oblikah kot so soli, različne kristalne oblike (polimorfi, psevdopolimorfi) in amorfna oblika, katerih kemijske in fizikalne lastnosti se lahko bistveno razlikujejo. Z metodo čiščenja in izolacije (kristalizacije) zdravilne učinkovine lahko vplivamo na njene fizikalne in kemijske lastnosti. Amorfna oblika zdravilnih učinkovin se hitreje in predvsem bolje raztaplja (višja topnost) od kristalnih oblik, vendar jih redko zasledimo v farmacevtskih izdelkih zaradi slabše kemijske in fizikalne stabilnosti oziroma težnje po kristalizaciji. Različne kristalne oblike (polimorfi) zdravilne učinkovine se lahko med seboj razlikujejo v temperaturi tališča, topnosti, stabilnosti, hitrosti raztapljanja, intrinzični topnosti, biološki uporabnosti, obliki delcev,

gostoti, barvi in stisljivosti. Termodinamično bolj stabilna oblika (višje temperatura tališča) je slabše topna od termodinamično manj stabilne oblike. Variranje kristalne oblike zdravilne učinkovine je tako eden od načinov za prirejanje njenih fizikalno-kemijskih lastnosti (1-3). Pri tem se moramo zavedati, da lahko topnost s spreminjanjem kristalne oblike spreminjamo samo v omejenem območju (v literaturi najdemo primere, kjer je razlika v topnosti med najbolj in najmanj topno kristalno obliko manj kot 10-kratna), medtem, ko lahko topnost z uporabo amorfne oblike povečamo tudi za več kot 1.000-krat (4).

Kokristalizacija ponuja dodatne možnosti in ima velik potencial za pripravo novih, stabilnih struktur, s katerimi lahko izboljšamo lastnosti zdravilnih učinkovin (3, 5). V nasprotju s polimorfi, ki imajo enako kemijsko strukturo, so kokristali spremenjene kemijske entitete, ki nastanejo z interakcijo dveh ali več različnih molekul. Po svoji strukturi so kokristali najbližje solvatom saj gre v obeh primerih za heteromolekularne strukture, pri čemer je osnovna razlika med obema v agregatnem stanju. Pri kokristalih sta tako zdravilna učinkovina kot tvorilec kokristala pri normalnih pogojih v trdnem stanju, pri solvatih

Borut Kovačič, mag. farm., Krka d.d. Novo mesto, Šmarješka cesta 6, 8501 Novo mesto, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

Izr. prof. dr. Odon Planinšek, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

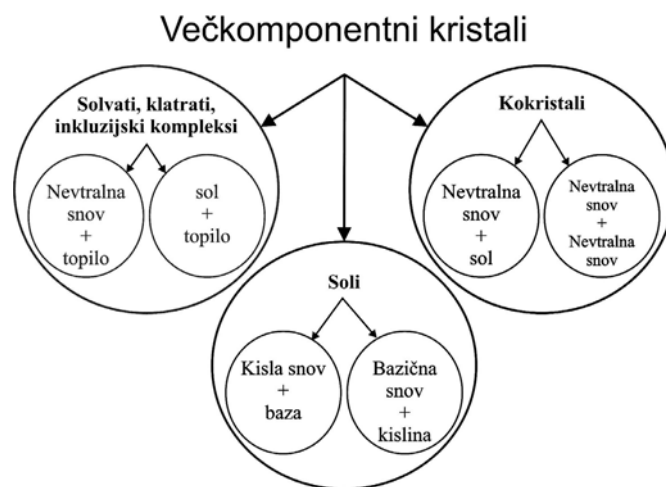
Izr. prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm., Krka d.d. Novo mesto, Šmarješka cesta 6, 8501 Novo mesto, Slovenija in Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

pa je ena komponenta v tekočem stanju. V primerjavi z različnimi kristalnimi oblikami, lahko z izdelavo kokristalov dosežemo večje razlike v fizikalno-kemijskih lastnostih zdravilne učinkovine. Lastnosti, ki so pomembne za farmacevtsko uporabo zdravilne učinkovine in jih lahko »prirejamo« s tvorbo kokristala, so temperatura tališča, topnost, hitrost raztapljanja, stabilnost, higroskopskost, mehanske lastnosti in biološka uporabnost (5).

## 2 Farmacevtski kokristali

Kokristali spadajo v skupino t.i. večkomponentnih kristalov, kamor glede na naravo molekul v kristalni rešetki uvrščamo tudi solvate, klatrate, inkluzijske komplekse in soli (slika 1) (6). Izraz »kokristal« se je že leta 1968 pojavil v znanstveni literaturi, ko so avtorji opisali večkomponentni kristal, ki je sestavljen iz pirimidina in purina (7, 8). Zaenkrat še nimamo enotne definicije pojma »kokristal«, saj v literaturi naletimo na različne definicije s strani različnih avtorjev (preglednica 1) (9-18). V splošni definiciji lahko povzamemo, da so kokristali enotne kristalinične snovi, njihovo kristalno rešetko sestavljajo nevtralne komponente (molekule) v stehiometrijskem razmerju (ponavadi 1:1, 1:2 ali 1:3) in so pri sobnih pogojih v trdnem agregatnem stanju. Najpogosteje je kokristal sestavljen iz dveh molekul, t.j. iz tarčne molekule in tvorilca kokristala. Zasledimo pa tudi kokristale, ki so sestavljeni iz treh ali več molekul, v tem primeru je ponavadi tarčna molekula v obliki solvata ali soli (16, 19, 20).

V farmacevtskem kokristalu nastopa zdravilna učinkovina kot tarčna molekula, tvorilec kokristala pa je lahko neaktivna snov ali druga zdravilna učinkovina. Tvorilci kokristala, ki so primerni za farmacevtsko uporabo, so lahko mnoge uveljavljene pomožne snovi, ki se uporabljajo v farmacevtski ali prehrabeni industriji, oziroma so lahko to substance, ki jim FDA dodeli oznako GRAS (angl. generally regarded as safe- splošno varne substance) (17, 21).



**Slika 1:** Klasifikacija večkomponentnih kristalov. Prirejeno iz (6).

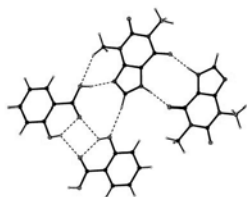
**Figure 1:** Classification of multicomponent crystals. Adapted from (6).

**Preglednica 1:** Definicije kokristala in farmacevtskega kokristala\*.

**Table 1:** Definitions of a cocrystal and pharmaceutical cocrystal\*.

Avtor	Definicija kokristala	Lit. vir
Desiraju, 2003	»večkomponentne kristale, v katerih so molekule med seboj povezane s specifičnimi nekovalentnimi interakcijami, ne moremo imenovati kokristali, temveč molekulski kompleksi«	9
Dunitz, 2003	»kristalinični molekulski kompleksi, solvati, inkluzijske zmesi, klatrati in druge vrste večkomponentnih kristalov, v katerih so raznovrstne molekule med seboj močnejše povezane kot v enostavnih zmeseh«	10
Aakeröy, 2005	»snov, ki je zgrajena iz posameznih nevtralnih molekulskih vrst; ioni in ioni kovin prehoda so izključeni« »sestavljani so iz reaktantov, ki so trdni pri sobni temperaturi« »strukturno homogena kristalinična snov, ki vsebuje dva ali več komponent v stehiometrijskem razmerju«	11
Jones, 2006	»kristalinični kompleks dveh ali več nevtralnih molekularnih komponent, ki so povezane v kristalno rešetko z nekovalentnimi povezavami, pogosto z vodikovo vezjo«	12
Bond, 2007	»sinonim za večkomponentni molekulski kristal«	13
Childs, 2007	»kristalinična snov iz dveh ali več komponent (atom, ion ali molekula), ponavadi v stehiometrijskem razmerju«	
Stahly, 2007	»molekulski kompleks, ki vsebuje dve ali več različnih molekul v skupni kristalni rešetki«	15
Nangia, 2008	»večkomponentna tvorba v trdnem stanju, ki jo sestavljata dve ali več komponent in so povezane z eno ali več medmolekulskimi interakcijami«	16
Zaworotko, 2006	* »sestavljani so iz molekularne ali ionske zdravilne učinkovine in tvorilca kokristala, ki je v trdnem agregatnem stanju pri sobnih pogojih«	17
Schultheiss, 2009	* »sestavljani so iz nevtralne ali ionske zdravilne učinkovine in nevtralnega tvorilca kokristala, ki sta povezana z nekovalentnimi, prosto reverzibilnimi povezavami« »tvorilec kokristala je lahko farmacevtsko sprejemljiva snov« »vsaj ena značilna fizikalnokemijska lastnost«	18

Raznovrstne molekule v kokristalu povezujejo nekovalentne interakcije, med katere prištevamo vodikove vezi, koordinacijske vezi, halogenske vezi, hidrofobne interakcije, van der Waalsove vezi,  $\pi$ - $\pi$  interakcije in elektrostatske vezi (npr. dipol-dipol) (22). Zaradi jakosti in usmerjenosti je vodikova vez najpomembnejša interakcija v kokristalni formaciji (slika 2) (19, 23). Strukturne enote oz. funkcionalne skupine, ki povezujejo molekule med seboj z nekovalentnimi povezavami, imenujemo sintoni. V farmacevtskih in bioloških sistemih sta pomembna sintona karboksilni dimer O-H...O pri karboksilnih kislinah in karboksamidni dimer N-H...O pri amidih (5). V primeru, da je v molekuli zdravilne učinkovine in tvorilca kokristala prisotnih več funkcionalnih skupin, obstaja večja možnost tvorbe farmacevtskega kokristala (24). Analiza 100 najpogostejše predpisovanih zdravilnih učinkovin je pokazala, da ima 39% zdravilnih učinkovin vsaj eno nevtralno hidroksilno skupino in 30% jih ima vsaj eno karboksilno skupino, kar se tudi ujema z deležem učinkovin s hidroksilno ali karboksilno skupino, ki so navedene v Merckovem indexu (25-27).



**Slika 2:** Primer kokristala teofilin:salicilna kislina: molekuli sta povezani v skupno kristalno strukturo z vodikovimi vezmi (prekinjene črte) preko funkcionalnih skupin (23).

**Figure 2:** An example of theophylline:salicylic acid: molecules are connected together in crystal structure with hydrogen bonds (dotted lines) via functional groups (23).

### 3 Pomen in lastnosti farmacevtskih kokristalov

Četudi so kokristali že dolgo znani (7, 8), pa se je zanimanje zanje povečalo konec 80ih let 20. stoletja z odkritjem, da je kokristale možno uporabiti v supramolekulski kemiji, za organsko sintezo brez uporabe topil oz. sintezo v trdnem stanju, v tehnologiji nelinearne optike (NLO) in za razvijanje fotografskih filmov (28-31). Tudi farmacevtski kokristali so še relativno slabo raziskani, vendar pa farmacevtska znanost in industrija kažeta zanje vedno večje zanimanje ravno zaradi številnih novih možnosti pri razvoju zdravil. Največji potencial kokristalov so možnosti za izboljšanje lastnosti zdravilnih učinkovin brez kemijske spremembe molekule (5,17,32,33).

Zdravilne učinkovine tradicionalno uporabljamo v obliki soli, polimorfov, solvatov oziroma hidratov, s čimer želimo vplivati na fizikalno-kemijske lastnosti. Pri tem se srečujemo z različnimi težavami in omejenim naborom ustreznih protioionov ali topil (6, 34).

Pri farmacevtskih kokristalih teoretično obstaja večje število potencialnih tvorilcev kokristala za določeno zdravilno učinkovino in s tem večje možnosti za prirejanje fizikalno-kemijskih lastnosti. Spremenjene lastnosti lahko večinoma razložimo kot posledico

spremenjene lege molekule v kristalni rešetki in medmolekulskih povezav ter so zelo odvisne od lastnosti tvorilca kokristala. Lastnosti, ki so pomembne za farmacevtsko uporabo zdravilne učinkovine in ki jih lahko spreminjamo s tvorbo kokristalov so:

- **Temperatura tališča:** Kokristali imajo temperaturo tališča različno od temperature tališča posameznih komponent (5, 35, 36). Zanimivo je tudi, da pod to temperaturo ni nobenih drugih termičnih dogodkov. S tem, ko s tvorbo kokristala znižamo temperaturo tališča zdravilne učinkovine, se lahko izognemo težavam, povezanih z njeno termolabilnostjo v procesih, ki potekajo pri višjih temperaturah, t.j. v talini (5).
- **Hitrost raztapljanja, topnost, biološka uporabnost:** V raziskavah določanja hitrosti raztapljanja kokristalov se je izkazalo, da se pri raztapljanju težko topna zdravilna učinkovina v kokristalu lahko obnaša podobno kot čista amorfna oblike zdravilne učinkovine in lahko doseže tudi do 20-krat višjo koncentracijo v primerjavi s čisto kristalinično obliko (primer itrakonazol (37)), kljub temu, da ima čista kristalinična oblika manjše delce (35). Pri tem lahko nastane prenasočena raztopina zdravilne učinkovine v mediju. Kokristali, nasprotno kot amorfni, ne vplivajo samo na kinetiko raztapljanja, temveč tudi na ravnotežno topnost. Literaturni podatki kažejo, da je to povečanje manj izrazito kot v primeru soli zdravilnih učinkovin (28). Topnost in hitrost raztapljanja kokristalizirane zdravilne učinkovine sta v veliki meri odvisni od tvorilca kokristala. V primeru kokristalov fluoksetinijevega klorida se je izkazalo, da je kokristal z benzojsko kislino slabše topen, kokristal s fumarno kislino rahlo bolje topen, medtem ko učinkovina v kokristalu z jantarno kislino takoj doseže dvakrat višjo koncentracijo, preden se pretvori v stabilno obliko in doseže ravnotežno topnost čiste učinkovine (20).

Eden od vzrokov za povečano hitrost raztapljanja in topnost je lahko sprememba pH medija, v katerem poteka test raztapljanja med raztapljanjem ene od komponent. Še posebej to velja za učinkovine, ki ionizirajo v vodi ali imajo pH-odvisno topnost in ko je izbrani medij nepufirana vodna raztopina ali kar sama voda (5, 18, 20). V pufranih medijih pa je povečana topnost zdravilne učinkovine lahko posledica solubilizacijskega učinka raztopljenega kokristalnega partnerja oz. tvorbe bolj topnega kompleksa; slabša topnost pa je lahko posledica doseženega topnostnega produkta zaradi raztapljanja kokristalnih komponent (38). V primeru kokristalov, ki imajo nižjo ali višjo temperaturo tališča, lahko sklepamo na šibkejše ali močnejše medmolekulske povezave, kar vpliva na hitrost disociacije kokristala in s tem na hitrost raztapljanja (18). Farmakokinetične študije na psih potrjujejo, da lahko z ustrezno kokristalizacijo slabo topne in dobro permeabilne zdravilne učinkovine, zaradi katere se ta hitreje raztaplja in ima višjo topnost, izboljšamo absorpcijo in biološko uporabnost zdravilne učinkovine (35).

- **Higroskopnost:** Molekule so v kokristalu med seboj povezane v enotno kristalno rešetko na način, ki temelji na komplementarnosti funkcionalnih skupin in vodikovih vezi, kar v nekaterih primerih inhibira proces vgradnje molekule topila, ki prav tako temelji na komplementarnosti sistema (5). Basavoju s sodelavci je pripravil kokristal indometacin-saharin v stehiometrijskem razmerju 1:1, ki je nehigroskopen v primerjavi s čistim indometacinom. Pri merjenju

dinamične sorpcije vlage (Dynamic vapour sorption – DVS) se je izkazalo, da nastali kokristal veže zanemarljivo količino vode (<0,05%) pri 95% relativni vlažnosti, kar je manj kot v primeru stabilne oblike indometacina (0,07%) ali v primeru fizikalne zmesi indometacina in saharina (0,10%) (36). Pojav manjše higroskopnosti kokristalov v primerjavi s čisto učinkovino ni pravilo. Tako so Trask in sodelavci ugotovili, da kokristal kofeina in oksalne kisline ni higroskopen, medtem ko kokristali kofeina z malonsko in maleinsko kislino vežejo vodo, pri čemer kokristal razpade in nastane hidrat kofeina (39).

- **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 karbamazepin 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 (5).
- **Mehanske lastnosti:** Oblika kristalov in velikost delcev zdravilne učinkovine sta pomembni lastnosti trdnih kristaliničnih snovi, ki lahko vplivajo na razvoj in proces izdelave zdravil (pretočne lastnosti, stisljivost, sedimentacija, hitrost raztapljanja) (40). 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 (40, 41). Ob enakih pogojih (ko)kristalizacije norfloksacina v prisotnosti saharina so nastali delci norfloksacinijevega saharinata dihidrata (sol), ki so imeli obliko dolgih, tankih iglic, hkrati pa so nastali tudi delci kokristala norfloksacin saharinat:saharin (kokristal soli in nevtralne molekule) v obliki dolgih, ploščatih iglic (19).
- **Farmakološke lastnosti:** Kot smo omenili, tvorba kokristalov lahko vpliva na večjo hitrost raztapljanja in s tem tudi na biološko uporabnost, kar pomeni, da dosežemo višjo koncentracijo zdravilne učinkovine v plazmi kot po aplikaciji istega odmerka čiste učinkovine in s tem močnejši učinek.

Leta 2007 je FDA prejela pritožbe lastnikov domačih živali zaradi številnih poginov živali, ki jo je povzročila hrana. Vzrok smrti je bila ledvična odpoved. Po preiskavi so odkrili, da sta okvaro ledvic povzročili dve relativno netoksični substanci – melamin in cianurska kislina, ki sta bili v hrani prisotni v manjši količini, kot je toksični odmerek. Naknadne raziskave so pokazale, da je kokristal melamin:cianurska kislina 1:1 praktično netopen v vodi in zato pride do obarjanja kokristala v ledvicah, kar je povzročilo zamašitev ledvičnih tubulov (33).

## 4 Metode oblikovanja (dizajniranja) in priprave kokristalov

Kristalizacija večkomponentnih kristalov v stehiometrijskem razmerju je rezultat različno močnih povezav, ki povzročajo agregacijo istovrstnih molekul – homomeri in med različnimi molekulami – heteromeri (5). Kokristali lahko nastanejo naključno, če sta v zmesi

komplementarni komponenti, ki se med seboj lahko povežeta v urejeno strukturo preko vodikovih ali drugih nespecifičnih nekovalentnih vezi. V primeru t.i. »inženiringa kristalov« oz. načrtovane priprave farmacevtskih kokristalov, pa je ponavadi prvi korak analiza obstoječih kristalnih oblik. Ta se ponavadi izvrši z uporabo *Cambridgeove strukturne podatkovne baze* (angl. Cambridge Structural Database - CSD), ki nam posreduje statistično analizo kristalnih oblik in razporeditve molekul v kristalu in s tem poda empirično informacijo o tem, kako so orientirane funkcionalne skupine in kakšne so možnosti medmolekulskih povezav preko supramolekulskih sintonov (17). Ko je izbrana učinkovina za kokristalizacijo, je potrebno izbrati pomožno snov z ustrežno strukturo. Sposobnost zdravilne učinkovine in tvorilca kokristala, da se vgradi v kokristal, je povezana z njunima molekulskima strukturama, lego molekul v kristalu, možnostjo nastanka vodikovih vezi in gibljivostjo molekul, zato ni mogoče zagotovo napovedati, ali bo med dvema komponentama potekla kokristalizacija. Zaenkrat so potrebni empirični poskusi (5). Razvoj kokristalov lahko racionaliziramo, če upoštevamo pravila tvorbe vodikovih vezi med trdnimi komponentami (17):

1. Vsi dobri donorji in akceptorji protona sodelujejo pri tvorbi vodikove vezi.
2. Šest-členski obroč, ki ga tvorijo medmolekulske vodikove vezi, nastane lažje kot znotrajmolekulske vodikove vezi.
3. Najboljši donorji in akceptorji protona, ki ostanejo prosti po tvorbi medmolekulskih vezi, tvorijo znotrajmolekulske vodikove vezi med seboj.

Upoštevanje teh pravil nam olajša izbiro komplementarne komponente, saj bo tako večja verjetnost tvorbe medmolekulskih vodikovih vezi in s tem možnost vgraditve obeh komponent v kokristal. Omenimo lahko, da v opisanih kokristalih najpogosteje nastopa ena molekula s karboksilno skupino in druga z dušikovim heterociklom v strukturi (preglednica 2).

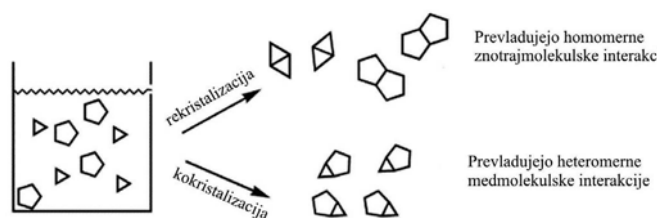
Kokristale najpogosteje pripravimo z obarjanjem raztopljenih komponent ali z mletjem zmesi komponent (5):

**Kokristalizacijo iz raztopin** najpogosteje izvajamo z metodo počasnega odparevanja topila iz raztopine z ekvimolarnim oz. stehiometrijskim razmerjem koncentracij kokristalnih komponent. Lahko uporabimo tudi metodo, pri kateri najprej raztopimo komponente pri višji temperaturi, nato pa raztopino ohlajamo, da poteče kristalizacija (5). Pri kokristalizaciji iz raztopine je pomembno, da imata obe komponenti podobno topnost, drugače se najprej obori le manj topna komponenta. Priporočljivo je, da uporabljamo za kokristalizacijo tiste učinkovine in pomožne snovi, ki lahko tvorijo več polimorfnih oblik. Če obstaja molekula v več polimorfnih 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 (49). Vseeno sam polimorfizem ni zagotovilo, da je izbrana spojina ustreznna komponenta za kokristalizacijo, ključno vlogo pri tem igra jakost heteromernih medmolekulskih interakcij preko sintonov, ki morajo presepati homomerne znotrajmolekulske interakcije (19, 50).

**Preglednica 2:** Pregled nekaterih v literaturi opisanih farmacevtskih kokristalov in vpliv na lastnosti zdravilne učinkovine.

**Table 2:** Review of some pharmaceutical cocrystals reported in the literature and influence on API's properties.

Zdravilna učinkovina	Tvorilec kokristala	Metoda priprave	Izboljšana lastnost	Literaturni vir
Fluoksetinijev klorid	Jantarna kislina Fumarna kislina	Iz raztopine	Intrinzična hitrost raztapljanja	20
Indometacin	Saharin	Iz raztopine, mletje	Higroskopnost, hitrost raztapljanja	36
Itrakonazol	Izonikotinamid Jantarna kislina	Iz raztopine	Hitrost raztapljanja	37
Kofein	Oksalna kislina Glutarna kislina Metil galat	Mletje	Stabilnost  Stisljivost	39  42
Karbamazepin	Nikotinamid Saharin	Iz raztopine	Higroskopnost, hitrost raztapljanja, biološka uporabnost	43
Teofilin	Oksalna, maleinska, malonska, glutarna kislina	Iz raztopine, mletje	Higroskopnost	44
Sildenafil	Acetilsalicilna kislina	Iz raztopine	Topnost, intrinzična hitrost raztapljanja	45
Norfloksacin	Izonikotinamid	Iz raztopine	Topnost	46
Celekoksib	Nikotinamid	Iz raztopine	Hitrost raztapljanja	47
Megestrol acetat	Saharin	Iz raztopine	Intrinzična hitrost raztapljanja	48



**Slika 3:** Kokristalizacija iz raztopine: dominacija homomernih znotrajmolekulskih interakcij vodi do rekristalizacije, dominacija heteromernih medmolekulskih interakcij vodi do kokristalizacije. Prirejeno iz (11).

**Figure 3:** Cocrystallization from solution: domination of homomeric intramolecular interactions leads to recrystallization, domination of heteromeric intermolecular interactions leads to cocrystallization. Adopted from (11).

**Tvorba kokristalov v trdnem stanju** temelji na mehanski aktivaciji komponent z mletjem. To je t.i. metoda »zelene kemije«, ki je alternativa pripravi kokristalov iz raztopine (19). Znano je, da se z mletjem pogosto poruši kristalna rešetka in nastane amorfna snov, prav tako literatura navaja primere tvorbe različnih polimorfnih oblik učinkovine kot posledice mehanske obremenitve pri mletju (51). Prednost te metode je, da je hitrejša z odsotnostjo težav povezanih z različno topnostjo komponent, zato je primernejša za reševanje (»screening«).

Če kokristalizacija poteka preko amorfne faze snovi, je hitrost kokristalizacije odvisna od pogojev mletja (temperatura) in od temperature steklastega prehoda reagentov. Tako v primeru tvorbe kokristala karbamazepin-saharin z mletjem obeh komponent proces

kokristalizacije poteka hitreje pri sobni temperaturi kot v hladnejših pogojih, kjer je amorfna faza bolj stabilna (51).

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 uporabimo hidratirano kristalno obliko reaktanta ali ko pri mletju uporabljamo zelo majhno količino vode (5, 51). Trask in sodelavci (52) so primerjali kokristale kofeina in glutarne kisline, ki so bili pripravljene z mletjem ob uporabi majhne količine (nekaj kapljic) različnih topil. Ugotovili so, da nastanejo različne kokristalne strukture, oz. so molekule obeh komponent drugače razporejene v kokristalni rešetki, ko komponente zmeljejo brez topila (nastane oblika I), z dodatkom nepolarnega topila (n-heksan, cikloheksan, heptan; nastane oblika I), ali z dodatkom bolj polarnega topila (kloroform, diklorometan, acetonitril, voda; nastane oblika II).

Kokristalizacija lahko nehoti poteka med različnimi procesi v proizvodnji ali med skladiščenjem zdravil. Zavedati se je treba, da ta proces poteka hitreje pri višji relativni vlažnosti. Tvorbo kokristalov bi torej morali dodati spisku možnih pretvorb k že dodani tvorbi polimorfov in solvatov, ki so posledica mehanskih, termičnih in kemijskih vplivov med izdelavo, transportom in shranjevanjem zdravil (5, 51).

## 5 Metode karakterizacije kokristalov

Kokristalne komponente so v kokristalu med seboj povezane in orientirane drugače, kot sicer vsaka posamezna komponenta. Zato so za karakterizacijo primerne vse metode, ki nam podajajo informacijo o kristalni strukturi. V procesu izdelave kokristalov nas najprej zanima, ali je kokristalizacija uspešno potekla. To lahko preverimo z



diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC), termogravimetrično analizo (TGA), rentgensko praškovno analizo (XRPD), Ramansko in infrardečo (IR) spektroskopijo. Rezultat teh analiznih metod so posamezni spektri. V primeru, da kokristal ne nastane, so spektri vzorcev vsota spektrov izhodnih komponent. Če pa komponente po procesu priprave tvorijo skupno kristalno strukturo, so pripadajoči spektri drugačni – v DSC spektru vidimo eno samo tališče; v XRPD spektru 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 potrditi prisotnosti kokristala, saj tudi pri tvorbi soli ali solvata nastanejo edinstveni spektri. Potrebne so metode, ki lahko zaznajo stopnjo prenosa protona med dvema komponentama in s tem podajo informacijo o tvorbi ionske interakcije ali vodikove vezi. Zato je najzmogljivejša analizna metoda za strukturno karakterizacijo kokristalov rentgenska difrakcija na monokristalu (Single Crystal X-Ray Diffraction). Ta metoda nam poda absolutno kristalno strukturo in s tem možnost, da razberemo razmerje molekul v kokristalu, prostorsko uredjenost molekul ter vrsto in položaj interakcij v kokristalu. Vendar za to analizno metodo potrebujemo kristale ustrezne velikosti in kvalitete, kar pogosto predstavlja problem, saj kokristali, ki jih pripravimo z mletjem, praviloma niso primerni za takšno analizo. Močno analizno orodje predstavlja tudi jedrska magnetna resonanca v trdnem stanju (CP/MAS NMR), s katero lahko določimo polimorfe in razberemo interakcije v kokristalu. Metoda se dobro dopolnjuje z rentgensko praškovno analizo (18, 52-56).

## 6 Farmaceutski kokristali in intelektualna lastnina

Farmacevtska in biotehnološka podjetja se še posebej zanašajo na rigorozno zaščito intelektualne lastnine, ki hkrati tudi ščiti prihodke od lastnih proizvodov, saj so s to panogo povezane številne regulatorne ovire, visoki razvojni stroški in vselej prisotna tveganja, da se stroški razvoja izdelka ne bodo povrnili med njegovim trženjem. Kokristali, v katerih je zdravilna učinkovina povezana s tvorilcem kokristala lahko izpolnjujejo pogoje patentne zaščite (57).

Patent lahko podelijo izumu, ki izpolnjuje tri pogoje (58):

- **Novost:** Izum oziroma tehnična rešitev je nova, če ni obsežena s stanjem tehnike, se pravi, da ni bila pred datumom vložitve patentne prijave dostopna javnosti z ustnim ali pisnim opisom, z uporabo ali na katerikoli drug način.
- **Inventivnost:** Izum je na inventivni ravni, če za strokovnjaka predmet izuma očitno ne izhaja iz stanja tehnike.
- **Industrijska uporabnost:** Izum je industrijsko uporabljiv, če se predmet izuma lahko proizvede ali uporabi v katerikoli gospodarski dejavnosti, vključno s kmetijstvom.

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 pravno zadostijo kriteriju novosti za patentibilnost.

Za koncept inventivnosti pri kokristalih lahko najdemo analogijo v kristalnih oblikah zdravilnih učinkovin. Dodatni patenti na novih kristalnih oblikah že znanih učinkovin pogosto dodatno podaljšajo ekskluzivno dobo zdravila na tržišču.

Farmaceutski kokristali z zdravilno učinkovino imajo večinoma enako terapevtsko uporabnost, kot jo ima sama zdravilna učinkovina in je patentno zaščiten z originatorjevo prijavo. Industrijska uporabnost se v primeru kokristalov izkazuje v prednostih, ki jih imajo kokristali zaradi izboljšanih fizikalno-kemijskih lastnosti v primerjavi s samostojno zdravilno učinkovino. Industrijska uporabnost se nanaša tudi na izvedljivost postopka v industrijskem merilu.

Z vidika patentne zaščite imajo nove oblike zdravilnih učinkovin velik pomen za farmacevtska podjetja. To lahko pomeni dodatno tržno prednost za podjetje, ki lahko vložijo dodatne prijave za ščitenje novih trdnih oblik in s tem časovno podaljšano ekskluzivnost svojega izdelka na trgu oz. omogoča generičnemu proizvajalcu, da predčasno vstopi na trg.

## 7 Zaključek

Povzamemo lahko, da ima v razvoju zdravil in zdravilnih učinkovin velik pomen izbira kristalne oblike. Tako postajajo raziskave farmacevtskih kokristalov del predformulacijskih študij, v katerih so do sedaj prevladovala raziskave polimorfov, soli in solvatov zdravilnih učinkovin. Pomemben prispevek kokristalov v farmacevtski industriji opazimo na področju prirejanja fizikalno-kemijskih lastnosti snovi, vendar se moramo zavedati, da lahko s tvorbo kokristala vplivamo tudi na farmakološke lastnosti, predvsem na večjo biološko uporabnost in s tem na toksičnost zdravila.

Nekateri farmacevtski kokristali izkazujejo fizikalno-kemijske, farmacevtsko-tehnološke in komercialne prednosti, kar pomeni, da so lahko tudi predmet patentne zaščite in omogočajo generičnim farmacevtskim podjetjem možnost predčasnega trženja zdravila.

Po drugi strani se je potrebno zavedati, da je področje kokristalov še relativno novo in zato ne dovolj raziskano za rutinsko uporabo v industriji, kar pred raziskovalce postavlja izziv, ki omogoča prelitje raziskovalnih dosežkov v njihovo aplikativno uporabo.

Zahvala: *Operacijo delno financira Evropska unija, in sicer iz Evropskega socialnega sklada.*

## 8 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. Vippaguntla 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. Singhal D, Curatolo W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. *Adv Drug Deliver Rev* 2003; 56: 335-347.
5. Rodriguez-Hornedo N, Nehm SJ, Jayasankar A. Cocrystals: Design, Properties and Formation Mechanisms. v: Swarbrick J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 3rd Edition*, Informa Healthcare, New York, 2007: 615-636.
6. 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.

7. Zukerman-Schpector J, Tiekink ERT. What is a co-crystal? *Z Kristallogr* 2008; 223: 233–234.
8. Schmidt J, Snipes W. Free radical formation in a gamma-irradiated pyrimidine-purine co-crystal complex. *Int J Radiat Biol* 1968; 13: 101–109.
9. Desiraju GR. Crystal and co-Crystal. *Cryst Eng Comm* 2003; 5: 466-467.
10. Dunitz JD. Crystal and co-crystal: a second opinion. *Cryst Eng Comm* 2003; 5: 506.
11. Aakeröy CB, Salmon DJ. Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility. *CrystEngComm* 2005; 7: 439-448.
12. Jones W, Motherwell WDS, Trask AV. Pharmaceutical Cocrystals: An Emerging Approach to Physical Property Enhancement. *MRS Bull* 2006; 341: 875-879.
13. Bond AB. What is a co-crystal? *Cryst Eng Comm* 2007; 9: 833-834.
14. Childs SL, Hardcastle KI. Cocrystals of Piroxicam and Carboxylic Acids. *Cryst Growth Des* 2007; 7: 1291-1304.
15. 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.
16. 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.
17. Vishweshwar P, McMahon JA, Bis JA, Zaworotko MJ. Pharmaceutical Co-Crystals. *J Pharm Sci* 2006; 93: 499-516.
18. Schultheiss N, Newman A. Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. *Cryst Growth Des* 2009; 9: 2950-2967.
19. 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.
20. 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.
21. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/grasguid.html#Q16>, dostopano: maj, 2009.
22. Lehn JM. Supramolecular Chemistry — Scope and Perspectives: Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Edit* 1988; 27, 89-112
23. [http://images.google.si/imgres?imgurl=http://www.rgu.ac.uk/graphics/PC%2520Co-crystal.jpg&imgrefurl=http://www.rgu.ac.uk/pharmacy/research/page.cfm%3Fpge%3D3326&usq=\\_\\_TcTFXXaP2dUn\\_tee9Rur28D4oCA=&h=355&w=503&sz=20&hl=sl&start=1&tbid=CbO8EjXgz3JOMM:&tbnh=92&tbnw=130&prev=/images%3Fq%3Dcocrystal%26gbv%3D2%26hl%3Dsl](http://images.google.si/imgres?imgurl=http://www.rgu.ac.uk/graphics/PC%2520Co-crystal.jpg&imgrefurl=http://www.rgu.ac.uk/pharmacy/research/page.cfm%3Fpge%3D3326&usq=__TcTFXXaP2dUn_tee9Rur28D4oCA=&h=355&w=503&sz=20&hl=sl&start=1&tbid=CbO8EjXgz3JOMM:&tbnh=92&tbnw=130&prev=/images%3Fq%3Dcocrystal%26gbv%3D2%26hl%3Dsl). Dostopano: 10-2009.
24. Blagden N, De Matas M, Gavan PT et al. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Adv Drug Deliver Rev* 2007; 59: 617-630.
25. Shattock TR. Crystal Engineering of Co-Crystals and their Relevance to Pharmaceutical Forms. Doktorsko delo, University of South Florida, 2007.
26. <http://www.rxlist.com/top200.htm>. Dostopano: 05-2009.
27. The Merck Index, 13th Ed., Merck & Company Incorporated, 2001.
28. Huang K, Britton D, Etter MC et al. A novel class of phenol-pyridine co-crystals for second harmonic generation. *J Mater Chem* 1997; 7: 713-720.
29. Gao X, Frišči T, MacGillivray LR. Supramolecular construction of molecular ladders in the solid state, *Angew Chem Int Edit* 2004; 43: 232-236.
30. Ma BQ, Zhang Y, Coppens P. Structural Variation and Supramolecular Isomerism in the C-Methylcalix[4]resorcinarene/Bipyridine System. *Cryst Growth Des* 2002; 2: 7-13.
31. Taylor LD, Warner JC. Process and composition for use in photographic materials containing hydroquinones, US patent 5,177,262 1994.
32. Almarsson Ö, Zaworotko MJ. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases: Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? *Chem Commun* 2004; 1889-1896.
33. Shan N, Zaworotko MJ. The role of cocrystals in pharmaceutical science. *Drug Discov Today* 2008; 13: 440-446.
34. Vishweshwar P, McMahon JA, Zaworotko MJ, Crystal Engineering of Pharmaceutical Co-Crystals. v: Tiekink ERT, Vittal JJ. *Frontiers in Crystal Engineering*, John Wiley & Sons 2006: 25-50.
35. McNamara DP, Childs SL, Giordano J et al. Use of a Glutaric Acid Cocrystal to Improve Oral Bioavailability of a Low Solubility API. *Pharm Res* 2006; 23: 1888-1897.
36. Basavoju S, Boström D, Velaga SP. Indomethacin-Saccharin Cocrystal: Design, Synthesis and Preliminary Pharmaceutical Characterization. *Pharm Res* 2007; 25: 530-541.
37. Remenar JF, Morissette SL, Peterson ML et al. Crystal Engineering of Novel Cocrystals of a Triazole Drug with 1,4-Dicarboxylic Acids. *J Am Chem Soc* 2003; 125: 8456-8457.
38. Nehm SJ, Rodriguez-Spong B, Rodriguez-Hornedo N. Phase Solubility Diagrams of Cocrystals are explained by Solubility Product and Solution Complexation. *Cryst Growth Des* 2006; 6: 592-600.
39. Trask AV, Motherwell WDS, Jones W, Pharmaceutical Cocrystalliation: Engineering a Remedy for Caffeine Hydration. *Cryst Growth Des* 2005; 5: 1013-1021.
40. Tiwary AK. Modification of crystal habit and its role in dosage form performance. *Drug Dev Ind Pharm* 2001; 27: 699–709.
41. 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.
42. Sun CC, Huo H. Improving Mechanical Properties of Caffeine and Methyl Gallate Crystals by Cocrystallization. *Cryst Growth Des* 2008; 8: 1575-1579.
43. 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.
44. Trask AV, Motherwell WDS, Jones W. Physical stability enhancement of theophylline via cocrystallization. *Int J Pharm* 2006; 320: 114-123.
45. Zegarac, M. et al. Pharmaceutically acceptable cocrystalline forms of sildenafil. PCT WO 2007/080362 2007.
46. Basavoju S, Boström D, Velaga SP. Pharmaceutical Cocrystal and Salts of Norfloxacin. *Cryst Growth Des* 2006; 6: 2699-2708.
47. Remenar JF, Peterson ML, Stephens PW et al. Celecoxib:Nicotinamide Dissociation: Using Excipients to Capture the Cocrystal's Potential. *Mol Pharm* 2007; 4:386-400.
48. Shiraki K, Takata N, Takano R et al. Dissolution Improvement and the Mechanism of the Improvement from Crystallization of Poorly Water-soluble Compounds. *Pharm Res* 2008; 25: 2581-2592.
49. Aakeröy CB. Crystal engineering: strategies and architectures. *Acta Crystallogr B* 1997; 53: 569-586.
50. 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.
51. Jayasankar A, Somwangthanaroj A, Shao ZJ et al. Cocrystal Formation during Cogrounding and Storage is Mediated by Amorphous Phase. *Pharm Res* 2006; 23: 2381-2392.
52. Trask AV, Motherwell WDS, Jonew W. Solvent-drop grinding: green polymorph control of cocrystallisation. *Chem Commun* 2004; 890-891.
53. Vogt FG, Clawson JS, Strohmeier M et al. Solid-State NMR Analysis of Organic Cocrystals and Complexes. *Cryst Growth Des* 2009; 9: 921-937.
54. 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.
55. Allesš 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.
56. Harris RK. NMR studies of organic polymorphs & solvates. *Analyst* 2006; 131: 351-373.
57. Trask AV. An Overview of Pharmaceutical Cocrystals as Intellectual Property. *Mol Pharm* 2007; 4: 301-309.
58. <http://www.uil-sipo.si/uil/dejavnosti/patenti/>. Dostopano: 10-2009.