

## KOKRYSTALIZAČNÍ SCREENING: VÝHODY A ÚSKALÍ JEDNOTLIVÝCH KOKRYSTALIZAČNÍCH TECHNIK

VERONIKA SLÁDKOVÁ<sup>a</sup>, BOHUMIL KRATOCHVÍL<sup>a</sup> a ELENA DOROŽKO<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Ústav chemie pevných látek, Fakulta chemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>b</sup> Tomsk Polytechnic University, Lenin av. 30, Tomsk  
Veronika.Sladkova@vscht.cz,  
Bohumil.Kratochvil@vscht.cz, elena-dorozhko@yandex.ru

Došlo 21.3.14, přijato 26.5.14.

Klíčová slova: léčivé látky, farmaceutické kokrystaly, screening, pevná fáze, krystalizace

### Obsah

1. Úvod
  - 1.1. Farmaceutické kokrystaly
  - 1.2. Screening pevné fáze
2. Kokrystalizační metody
  - 2.1. Společné tavení
  - 2.2. Mletí
  - 2.3. Mletí s přikapáváním rozpouštědla
  - 2.4. Odpařování rozpouštědla, rušená kokrystalizace, přídavek antisolventu
  - 2.5. Kokrystalizace v suspenzi
  - 2.6. Kokrystalizace ultrazvukem
  - 2.7. Kokrystalizace v mikročipu
3. Robustní výroba
  - 3.1. Kokrystalizace sprejovým sušením
  - 3.2. Kokrystalizace ve dvoušnekovém extruderu
4. Analýza screeningu
5. Závěr

### Úvod

Čím dál více jsou léčivé látky (API, Active Pharmaceutical Ingredient) formulovány ve formě molekulárních komplexů, jejichž vývoj směřuje především k vyšší účinnosti a bezpečnosti léčivých přípravků. Tyto molekulární komplexy bývají často předmětem patentové ochrany. Mezi používané molekulární komplexy řadíme vedle solí, solvátů a hydrátů i poměrně nedávno objevené kokrystaly. Stejně jako soli mohou kokrystaly vykazovat lepší rozpustnost a rychlejší disoluci oproti výchozí substanci, ale byly popsány i další výhodné vlastnosti<sup>1,2</sup>. Některé kokrystaly

vykazují vyšší stabilitu, jsou méně hygroskopické, jiné krystalizují v lepším tvaru, lépe se filtrují či lisují<sup>3–6</sup>.

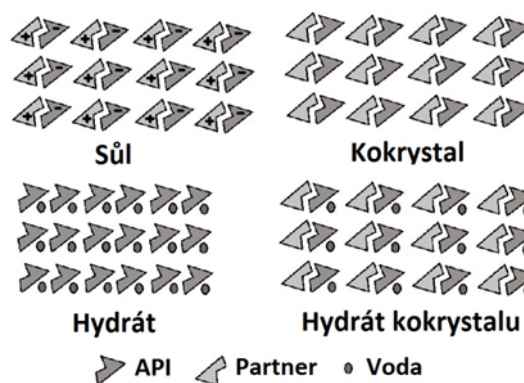
#### 1.1. Farmaceutické kokrystaly

Kokrystal je stechiometrická multikomponentní sloučenina typu hostitel : host, ve které jsou komponenty struktury v neionizovaném stavu. Užší vymezení termínu zahrnuje mezi farmaceutické kokrystaly látky vznikající pouze z komponent, které jsou za běžných podmínek v pevném stavu<sup>7</sup>. Rozšířením forem pevných látek o kokrystaly můžeme připravit i kombinace: polymorfy kokrystalu, solváty/hydráty kokrystalu, kokrystaly soli či solváty/hydráty kokrystalu soli (viz obr. 1).

Kokrystaly se uplatňují v nelineární optice a jiných disciplínách, ale největšího významu nabývají farmaceutické kokrystaly, ve kterých je jednou z komponent farmaceutická substance. Seznámení s problematikou farmaceutických kokrystalů je možné v několika publikacích; z české literatury pojednává o problematice Kratochvíl<sup>8</sup>, z cizojazyčné literatury o kokrystalech referuje např. Vishweshwar<sup>9</sup>, Schultheiss<sup>10</sup> a jiní<sup>11</sup>.

#### 1.2. Screening pevné fáze

Stejně jako ostatní pevné formy (polymorfy, soli, hydráty, solváty či amorfy), jsou farmaceutické kokrystaly hledány pomocí více či méně rozsáhlého screeningu (podrobně viz kap. 2). V porovnání s tradičními pevnými formami, podání aktivní substance formou kokrystalu umožňuje použití vyššího počtu potenciálních kokrystalizačních partnerů (koformerů), jejichž seznam je omezen na molekuly s akceptovatelným bezpečnostním profilem a dále může být zúžen na látky s funkčními skupinami odpovídajícími tvorbě supramolekulárních synthonů s danou API. Supramolekulární synthon lze chápat jako



Obr. 1. Vybrané typy multikomponentních sloučenin

nevazebnou interakci mezi molekulami (komponentami kokryystalu), která přispívá k uspořádání molekul v prostoru, zpravidla jej tvoří vodíkové můstky, ale i jiné slabší interakce<sup>8,12</sup>.

Mezi časté kokryystalizační partnery patří karboxylové kyseliny (jablčňá, vinná, citronová, skořicová, mandlová a jiné), které už svým triviálním názvem napovídají, že jde o přírodní látky vyskytující se v potravě<sup>11,13</sup>. Dalšími používanými kokryystalizačními partnery bývají vitaminy, aminokyseliny, kofein nebo sacharin, čímž je k dispozici široká škála funkčních skupin, které mohou interagovat s funkčními skupinami farmaceutické substance a tvořit tak synthony. Interakce má většinou charakter vodíkové vazby a na rozdíl od solí nedochází k transferu vodíku mezi donorem a akceptorem.

Ionizovatelnou API lze podrobit screeningu solí i kokryystalů. Většina používaných kokryystalizačních partnerů je převzata ze screeningu solí, čímž dochází k překryvu; mnohdy je připravená nová fáze na pomezí soli a kokryystalu<sup>14</sup>. O charakteru nové fáze potom rozhodují s jistotou až výsledky strukturních analýz. K rozlišení soli a kokryystalu se používá i pravidlo  $\Delta pK_a$  ( $pK_a$  báze –  $pK_a$  kyseliny), ale u obtížně ionizovatelných látek jsou hodnoty  $pK_a$  obtížně stanovitelné<sup>11</sup>.

V závislosti na množství API je lepší racionálně zúžit výběr z běžně používaných asi 120 kokryystalizačních partnerů na počet přijatelnější pro screening. Možností je využití predikcí, které na základě různě sofistikovaných výpočtů (kvantově-mechanické výpočty krystalových struktur, aplikace Hansenova pravidla rozpustnosti nebo využití studia elektrostatických potenciálů) vyhodnocují kokryystalizační partnery, s nimiž je největší šance připravit kokryystal<sup>15–19</sup>. Přístup popsáný Fabiánem je založený na podobnosti některých vlastností molekul tvořících kokryystal (tvar, polarita)<sup>20</sup>. Jednodušší predikce jsou většinou založeny na úvahách o rozpustnosti, výše zmíněném parametru  $\Delta pK_a$  a komplementaritě funkčních skupin zúčastněných molekul, proto podobné úvahy a zkušenost mohou chemikovi mnohdy posloužit stejně dobře<sup>16</sup>. Všechny výpočty je ovšem nutné doplnit experimenty.

## 2. Kokryystalizační metody

Obecná a zaručená metoda na přípravu kokryystalů zatím neexistuje, proto bylo vyvinuto několik technik, kterými lze zvýšit pravděpodobnost úspěšné přípravy kokryystalu na míru. Kokryystalizační metody používané při screeningu lze rozdělit do dvou základních kategorií: s použitím a bez použití rozpouštědel. Z metod bez použití rozpouštědel se nejčastěji používá společné tavení a společné mletí, metody s rozpouštědly zahrnují kokryystalizaci odpařováním rozpouštědla, pomalým či rychlým chlazením roztoku, přidávkem antisolventu, kokryystalizaci v suspenzi, působením ultrazvuku či superkritické kapaliny. Friščík pro některé metody definuje parametr  $\eta$ , který vyjadřuje poměr objemu solventu k hmotnosti pevné směsi<sup>21</sup>. Na základě parametru  $\eta$  je možné metody porovnat,

od suchého mletí, kde  $\eta$  je rovno nule, přes vlhčené mletí ( $\eta = 0,2\text{--}12 \mu\text{l mg}^{-1}$ ), suspenze ( $\eta = 2\text{--}12 \mu\text{l mg}^{-1}$ ) až po kokryystalizaci z roztoků ( $\eta \gg 0$ ). V tomto pojetí se metody liší hlavně množstvím rozpouštědla a jeho nasycením vstupními látkami.

V následujících podkapitolách jsou popsány jednotlivé kokryystalizační metody.

### 2.1. Společné tavení

Metoda společného tavení byla poprvé popsána Lehmannem již v 19. století a dále byla rozvíjena manželi Koflerovými, po nichž je v literatuře pojmenována. Tímto způsobem byly úspěšně připraveny kokrystaly nikotinamidu s ibuprofenem, piracetamem a dalšími pěti farmaceutickými substancemi<sup>22</sup> či kokrystal 2-[4-(4-chlor-2-fluor-fenoxy)fenyl]pyrimidin-4-karboxamidu s kyselinou glutarovou<sup>23</sup> (účinná látka vyvíjená jako inhibitor potenciálně řízených sodíkových kanálů pro potlačování bolestivých stavů, zejména neuropathie). S využitím mikroskopu s vyhříváním stolcem (Hot Stage Microscope) lze spotřebu materiálu snížit na několik miligramů. Na sklíčko je nejprve umístěna látka s vyšším bodem tání (A), která se roztaví a po zchlazení se ponechá krystalizovat. Na okraj krystalizující taveniny je umístěna druhá látka s nižším bodem tání (B), která je roztavena. Tavenina částečně rozpouští látku A, čímž po zchlazení vzniká oblast mísení, která je srovnatelná s binárním fázovým diagramem vstupních komponent, kde na jedné straně máme 100 % látky A, na druhé 100 % látky B a mezi nimi se složení mění s koncentračním gradientem<sup>22</sup>. Při chladnutí může v oblasti mísení se správným složením vznikat nová fáze. Tato fáze a eutektické směsi z obou stran kokryystalu mohou být při dalším ohřevu pozorovány pod polarizačním mikroskopem a měly by mít odlišné teploty tání než vstupní látky A a B. Nová fáze může být přímo na sklíčku charakterizována i Ramanovou spektroskopií. Výhodou Koflerovy kontaktní metody je zmapování fázového diagramu již během screeningu a získání kokryystalizačních oček do roztoků při pěstování monokryystalu pro vyřešení struktury. Hlavní nevýhodou této metody zůstává pracnost, protože každý vzorek je připravován zvlášť, bez možnosti automatizace.

Možnost automatizace nabízí tavení v kelímkách při diferenční skenovací kalorimetrii (DSC). Životaschopnost této metody byla ověřena jak na známém kokryystalu karbamazepinu s kyselinou glutarovou, tak na nově popsaných kokrystalech kofeinu s kyselinou salicylovou či se sacharinem, sulfamethazinu s nikotinamidem či se sacharinem, theofylinu se sacharinem a karbamazepinu s malonovou či jantarovou kyselinou<sup>24</sup>. Směsi API a kokryystalizačního partnera v molárních poměrech 1:1, 1:2, 2:1 byly umístěny do kelímků a zahřívány nad eutektickou teplotu. Když po ochlazení vznikl kokrystal, při opětovném zahřívání byly pozorovány nové endotermy, odpovídající eutektiku a tání kokryystalu. Při interpretaci DSC křivek je třeba vzít v úvahu i možný vznik polymorfů vstupních složek, proto je třeba vznik kokryystalu ověřit dalšími analýzami.

Pro screening společným tavením hovoří malá spotřeba materiálu a práce bez rozpouštědel, proto nemusíme brát v úvahu rozpustnost vstupních látek. Lze jej aplikovat na teplotně stabilní látky, které se při tání nerozkládají.

## 2.2. Mletí

Jednoduchá, časově nenáročná a díky absenci rozpouštědel často vyzdvihovaná jako ekologická metoda, která nebere v úvahu rozpustnost, je společné mletí. V třecí misce s tloučkem či v různých mlýncích je možné semlít dvě i více látek ve stechiometrickém poměru a připravit tak kokystal, např. kokystal 9-methyladeninu s 1-methylthyminem vzniká velmi ochotně během 20 minut společného mletí<sup>25–27</sup>. Použitím různých poměrů mezi látkami lze připravit i kokristaly se stejným kokrytalizačním partnerem o různé stechiometrii, které se metodami s použitím rozpouštědel nedaří připravit. Možnost automatizace je v případě manuálního tření v achátové misce zcela vyloučena, při použití kulového mlýnku záleží přímo na typu přístroje, je-li možné mlít více vzorků naráz. Spotřeba API se pohybuje v desítkách miligramů na jeden experiment, výběr analytické metody proto není omezen množstvím materiálu, navíc mletím krystalického materiálu vzniká nejčastěji krystalická fáze. Některé molekuly ale mletím amorfizují, známý je případ laktosu či trehalosu, proto je dobré vyhledat, zda při použití dané API nehrozí podobné riziko<sup>28</sup>.

Při přípravě fyzikálních směsí vzorků pro jiné kokrytalizační metody se stechiometrická směs vstupních komponent často homogenizuje v třecí misce. Je nutné si uvědomit, že u ochotně vznikajících kokystalů může třením dodaná energie iniciovat konverzi látek na kokystal, stejně jako u méně stabilního kokystalu může mletí (např. při přípravě vzorku k analýze, zpracování ve výrobě) nastartovat rozpad na vstupní složky. Analýza vzorku na možné fázové změny by měla po mletí směsi či kokystalu následovat vždy.

## 2.3. Mletí s přikapáváním rozpouštědla

V případě, že energie dodaná mletím nestačí na iniciaci konverze, je možné přidat rozpouštědlo. Množství přidaného rozpouštědla je často překvapivě malé, ale dostačující k alespoň částečné konverzi, která při prvotním screeningu nemusí být stoprocentní. Desítky mikrolitrů solventu přikapáváme k desítkám až stovkám miligramů mleté směsi, proto je i tato metoda považována za šetrnou a nezatěžující prostředí rozpouštědly<sup>29</sup>. Role solventu spočívá jak ve vlhčení, které brání ohřevu látek při vzájemném tření a které usnadňuje kontakt částic (molekulární mazivo), tak v rozpouštění vstupních pevných látek.

## 2.4. Odpařování rozpouštědla, rušená kokrytalizace, přidavek antisolventu

Nejstarší způsobem přípravy kokystalů, který je také jedním z nejjednodušších, je volné odpařování rozpouštědla z roztoku. Obě komponenty jsou rozpuštěny

v rozpouštědle či ve směsi rozpouštědel při pokojové či zvýšené teplotě a baňky (vialky) jsou ponechány na dobře odvětrávaném místě po několik dní či týdnů. Dle těkavosti rozpouštědel lze baňky nechat otevřené, či překryté parafilmem s malými otvory.

Rozpustnost použitých látek by měla být v rozpouštědlech podobná (v anglických publikacích se vžil pojem congruent – kongruentní), aby i míra nasycení byla srovnatelná. Při velmi odlišné rozpustnosti může jedna komponenta začít krystalizovat v době, kdy druhá složka je ještě příliš zředěná. Odpařováním a krystalizací méně rozpustné složky se mění celkové složení systému a API s kokrytalizačním partnerem již nemusí být ve stechiometrickém poměru nutným pro vznik kokystalu. Proto je žádoucí najít vhodné rozpouštědlo nebo směs rozpouštědel, ve kterém mají vstupní látky srovnatelnou rozpustnost. Ochotněji vznikající kokristaly lze připravit i ze zředěných roztoků, čehož lze využít i při pěstování monokystalů vhodných pro strukturální analýzu. Většina popsaných kokystalů, jejichž struktura byla vyřešena z monokystalu, byla připravena právě krystalizací z roztoku.

Mají-li vstupní komponenty výrazný rozdíl rozpustnosti při různých teplotách, lze vyzkoušet i rušenou krystalizaci, kdy jsou zahorka nasycené roztoky zprudka zchlazeny. Při pomalém chlazení zvyšujeme šance přípravy monokystalu.

Další možností iniciace krystalizace z roztoku je přidavek antisolventu – rozpouštědla mísitelného se solventem a tvořícího s ním směs, ve které je pevná látka (API, kokystal) méně rozpustná; např. přidavek vody do roztoku piroxikamu s koformery v ethanolu, acetonu či acetonitrilu nebo přidáním hexanu k roztoku v tetrahydrofuranu či chloroformu<sup>30</sup>.

Při všech pokusech ale zůstává riziko vykrytalizování jedné nebo obou vstupních složek, aniž by vznikl kokystal. U velmi dobře rozpustných látek není výjimkou zatuhnutí roztoku ve viskózní sklo, ze kterého není možné získat krystalický produkt.

## 2.5. Kokrytalizace v suspenzi

Součástí polymorfního screeningu je rekrystalizace dané API z několika rozpouštědel. Experimentálně jednoduchým způsobem se ukázala příprava suspenzí API v každém solventu, které byly při pokojové teplotě umístěny na třepačku po několik týdnů<sup>31</sup>. Koncentrace API v roztoku je díky nerozpuštěnému podílu při dané teplotě maximální, čímž je maximální i aktivita API, která tak má nejlepší možnost přejít na svou nejstabilnější formu.

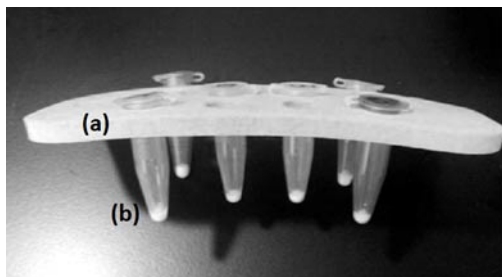
Tato myšlenka byla uplatněna i při vývoji této kokrytalizační metody<sup>32</sup>. Připraví se suspenze, ve které jsou obě vstupní složky (API a kokrytalizační partner) částečně rozpuštěné, ale od každé zůstává v roztoku nerozpuštěný podíl. Tím se dosáhne kritické aktivity pro vznik kokystalu. Tvoří-li komponenty stabilní kokystal, vznikne touto metodou po určité době téměř vždy. Protože se v systému ustanovuje rovnováha, snižuje se po vykrytalizování kokystalu koncentrace vstupních látek v roztoku a část

nerozpuštěného podílu vstupních látek se rozpouští. Tímto způsobem rekrystalizuje celý pevný podíl v suspenzi. Jsou-li vstupní látky v suspenzi ve stechiometrickém poměru, ve kterém vzniká kokrystal, připraví se kvantitativně. Je-li jedna ze vstupních složek v přebytku, pevný podíl bude tvořen jak kokrystalem, tak přebývající vstupní složkou. Ramanovou spektrometrií je možné změřit pevný podíl přímo *in situ* ve vialce a sledovat konverzi na kokrystal v závislosti na čase<sup>33</sup>. Příprava série suspenzí je velmi rychlý a jednoduchý úkon s možností automatizace.

Termodynamicky méně stabilní kokrystaly touto metodou nemusí vzniknout. Důležitou roli hraje i výběr rozpouštědla. Protože koncentrace složek v rozpouštědle je úměrná jejich aktivitám (které by měly být dostatečné k iniciaci konverze), musí být obě vstupní komponenty v daném rozpouštědle dostatečně rozpustné. Zároveň, příliš vysoká rozpustnost složek zvyšuje spotřebu materiálu.

## 2.6. Kokrystalizace ultrazvukem

Krystalizaci lze iniciovat i ultrazvukem, použití speciálních ultrazvukových sond vedlo k úspěšné přípravě několika kokrystalů<sup>21,34</sup>. Z běžně dostupné laboratorní techniky lze využít ultrazvukovou lázeň, která je hojně využívána i při rozpouštění pevných látek v solventech. Pro krystalizaci v ultrazvukové lázni byl upraven polystyrenový plo-

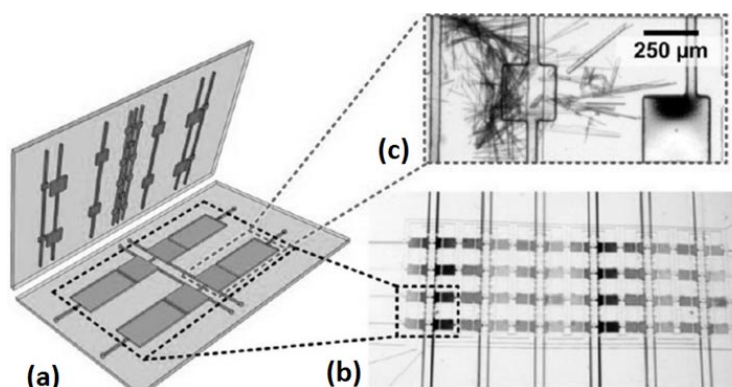


Obr. 2. Pro ultrazvukovou lázeň upravený pěnový plovák (a) s vialkami směsí API a koformeru (b). Převzato z cit.<sup>35</sup>

vák (viz obr. 2), do kterého byly vyvrtány otvory a umístěny vialky s fyzikálními směsmi kokrystalizovaných látek (5 mg) zakápnutých rozpouštědlem (10  $\mu$ l)<sup>35</sup>. Metoda byla ověřena na přípravě kokrystalů karbamazepinu se sacharinem a s nikotinamidem a dále byla úspěšně použita pro kokrystalizaci látek AMG 369 a AMG 277, agonistů S1P receptorů (receptorů pro sfingosin-1-fosfát), potenciálních léčiv pro terapii roztroušené sklerózy. Volba rozpouštědla a doba pobytu v lázni měla největší vliv na přípravu kokrystalů. Oproti kokrystalizaci v suspenzi, kterou tato metoda připomíná, ultrazvuková lázeň umožňuje lepší kontakt složek i v málo zavlhčené směsi. Po vysušení lze vzorky analyzovat různými metodami s ohledem na množství materiálu.

## 2.7. Kokrystalizace v mikročipu

Zajímavou specialitou, která díky malé spotřebě materiálu umožňuje kokrystalizační screening zařadit během prvních fází vývoje API, je kokrystalizace v mikročipu<sup>36</sup>. Čip je konstruován jako uzavíratelná plochá destička s drobnými kanálky a prohlubněmi (schéma viz obr. 3). Je připraven z polymerních materiálů odolných vůči organickým rozpouštědlům a umožňuje zajistit až 48 různých podmínek při přibližné spotřebě 240  $\mu$ g API. Detekce nové fáze při takto malých množstvích využívá Ramanovu spektroskopii, kdy jsou zrnka krystalů měřena přímo na mikročipu. V mikročipu jsou nasycené roztoky s API a s kokrystalizačními partnery vedeny do prohlubní, ve kterých se smíchají a dojde-li k přesycení, vykristalizuje alespoň jedna ze složek nebo kokrystal. Smícháním roztoků se nasycení látek v roztoku snižuje a odpaření rozpouštědla, které by zvyšovalo nasycení, je uzavřením čipu bráněno, proto k přesycení dojít vůbec nemusí. Tato metoda je určena zejména pro dobře krystalizující látky.



Obr. 3. Schéma mikročipu (a) s 4  $\times$  12 prohlubněmi pro krystalizovanou směs (b), fotografie vykrystalizovaných kokrystalů (c). Převzato z cit.<sup>36</sup>

### 3. Robustní výroba

Výše popsané laboratorní techniky ani zdaleka neobsahují všechny používané metody kokrytalizace. Další techniky jsou však využívány méně často, už proto, že využívají přístroje a materiály, které nejsou v laboratořích běžně dostupné. Řadíme sem např. kokrytalizaci pomocí superkritické kapaliny, která byla demonstrována na kokrytalu karbamazepinu se sacharinem či kokrytalizace z gelů či iontových kapalin. Více o těchto specializovaných screeningových metodách je k dispozici v cizojazyčné literatuře<sup>37,38</sup>. Doposud zmíněné metody jsou použitelné v laboratorním měřítku a jsou primárně určeny pro screening. Pro robustní výrobu mohou být využity jejich protějšky, založené na stejném principu ve větším měřítku, jako příklad jsou uvedeny dvě metody uplatňované při robustní výrobě kokrytalů.

#### 3.1. Kokrytalizace sprejovým sušením

Po použití rozpouštědel ve výrobním procesu léčiva následuje fáze sušení, která musí zajistit odpaření veškerého rozpouštědla, zvláště pokud patří do skupiny technologických rozpouštědel a ve výsledném výrobku je nežádoucí nečistotou. Sprejové sušení využívá horkého vzduchu k okamžitému odpaření rozpouštědla z roztoku či suspenze. Ke krystalizaci dochází přímo při sušení, čímž vzniká prostor k úpravě krystalizačních podmínek a dosažení určité velikosti, tvaru či hustoty vznikajících částic. Rychlé sušení často vede k produkci amorfního materiálu, ale v některých případech vede k získání i metastabilních polymorfů či hydrátů a mohla by se uplatnit při výrobě kokrytalů. Míra přesycení a změny teploty mají zásadní vliv na vlastnosti připravované fáze a mohou být připraveny i kokrytalové se stejným kokrytalizačním partnerem lišící se pouze stechiometrií, což klasickými metodami s rozpouštědly bývá obtížné, ne-li nemožné<sup>39</sup>.

#### 3.2. Kokrytalizace ve dvoušnekovém extruderu

Další z technologických operací při výrobě řady léčivých přípravků je extruze či extrudace, při které je směs léčivé látky s excipienty vytlačována přes síto. Hmoty je míchána a poháněna k sítu šnekovými podavači a většinou je zvlhčována vodou či jinými rozpouštědly. Vzdáleně tento postup připomíná mletí s přikapáváním rozpouštědla, ovšem ve větším měřítku. Kokrytalové, které lze v laboratorním měřítku připravit s pomocí třecí misky a pár kapek solventu, mohou být robustně vyráběny právě ve šnekovém extruderu<sup>40</sup>. Navíc lze v extruderu regulovat teplotu. Konverze na kokrytal nemusí být úplná v oblastech, kde míchání neprobíhá dostatečně efektivně. Podaří-li se uhlídat správný poměr vstupních komponent, dostatečné množství solventu, teplotu i dobré promíchávání, kokrytal můžeme vyrobit i se stoprocentním výtěžkem.

### 4. Analýza screeningu

Pro analýzu jsou používány převážně nedestruktivní analytické metody pevné fáze. Metodou první volby pro analýzu kokrytalů je RTG prášková difrakce, která spolehlivě odhalí vznik nové fáze. Tato metoda je následně doplněna Ramanovou a IČ spektroskopií. V poslední době ale RTG práškovou difrakci stále častěji nahrazuje Ramanova spektroskopie, kterou lze snáze analyzovat vzorky bez předchozí úpravy. Čím dál více je kladen důraz na stále menší analyzovatelné množství vzorku, navíc Ramanovou spektroskopií je často možné analyzovat pevnou fázi *in situ* v reaktoru či přes sklo vialky<sup>33</sup>. Interpretace výsledných spekter oproti interpretaci práškových záznamů ovšem vyžaduje větší zkušenost.

Termické analytické metody jsou destruktivní a používají se častěji k doplnění dat, s výše zmíněnými metodami se kombinují (pouze při screeningu v DSC kelímcích, kdy vzorek nedosahuje teplot rozkladu, je termická metoda první analýzou následovaná dalšími metodami<sup>24</sup>).

NMR pevného stavu může poskytnout zajímavé informace o vnitřním uspořádání pevné fáze, nepatří však mezi běžně dostupné analýzy, navíc k získání kvalitních dat vyžaduje větší množství vzorku, které bývá dostupné většinou až po reprodukci experimentu<sup>41</sup>. Analýzou, která má poslední slovo o charakteru pevné fáze, je RTG difrakce na monokrytalů, vyřešíme-li její strukturu. Příprava vhodného monokrytalů ale nebývá při prvotním screeningu běžná. Z tohoto důvodu je vhodnější RTG strukturální analýza z práškových dat, která má ovšem svá omezení<sup>42</sup>.

### 5. Závěr

Screening pevné fáze se stal nedílnou součástí vývoje pevné lékové formy a kokrytalizační screening si v něm vydobyl své místo. Před samotnými experimenty screeningu je vhodné dobře uvážit fyzikálně-chemické vlastnosti zkoumané aktivní substance a jejich očekávané vylepšení a vybrat nejpravděpodobnější kokrytalizační partnery. Volba kokrytalizační metody je také důležitá a její výběr by měl ideálně být šitý na míru pro každou API. Tím vším maximalizujeme šance pro úspěšnou přípravu kokrytalů.

Popsané laboratorní techniky přípravy kokrytalů mají všechny své klady a zápory. Doposud nebyla žádná metoda obecně přijata jako zaručená, která by vždy vedla k přípravě kokrytalů, a to i v případě, že je kokrytal již popsán. V literatuře bývá vyzdvihována jedna technika, často na úkor jiné. Objevují se i práce, které se snaží porovnat efektivitu jednotlivých metod na příkladu několika kokrytalů<sup>30</sup>, k vytvoření obecně platného pravidla ale tyto práce doposud nestačily. Použitím více kokrytalizačních metod, např. technik používajících rozpouštědla kombinovaných s metodami bez rozpouštědel lze ale významně zvýšit pravděpodobnost, že námi zvolené metody povedou k úspěšnému nalezení nového kokrytalů.

## LITERATURA

- Okáčová L., Vetchý D., Franc A., Rabišková M., Kratochvíl B.: *Chem. Listy* 104, 21 (2010).
- Bruni G., Maietta M., Maggi L., Mustarelli P., Ferrara C., Berbenni V., Freccero M., Scotti F., Milanese C., Girella A., Marini A.: *J. Phys. Chem. B* 117, 8113 (2013).
- Trask A. V., Motherwell W. D. S., Jones W.: *Cryst. Growth Des.* 5, 1013 (2005).
- Ando S., Kikuchi J., Fujimura Y., Ida Y., Higashi K., Moribe K., Yamamoto K.: *J. Pharm. Sci.* 101, 3214 (2012).
- Goud N. R., Gangavaram S., Suresh K., Pal S., Manjunatha S. G., Nambiar S., Nangia A.: *J. Pharm. Sci.* 101, 664 (2012).
- Childs S. L., Chyall L. J., Dunlap J. T., Smolenskaya V. N., Stahly B. C., Stahly G. P.: *J. Am. Chem. Soc.* 126, 13335 (2004).
- Aakeroy C. B., Salmon D. J.: *CrystEngComm* 7, 439 (2005).
- Kratochvíl B.: *Chem. Listy* 104, 823 (2010).
- Vishweshwar P., McMahon J. A., Bis J. A., Zaworotko M. J.: *J. Pharm. Sci.* 95, 499 (2006).
- Schultheiss N., Newman A.: *Cryst. Growth Des.* 9, 2950 (2009).
- Wouters J., Quere L.: *Pharmaceutical Salts And Cocrystals*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2012.
- Desiraju G. R.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 34, 2311 (1995).
- Velíšek J., Hajšlová J.: *Chemie potravin 1+2*, OSSIS, Praha 2009.
- Childs S. L., Stahly G. P., Park A.: *Mol. Pharmaceutics* 4, 323 (2007).
- Hansen C. M.: *Hansen Solubility Parameters: A User's Handbook*, CRC Press LLC, Boca Raton 2007.
- Mohammad M. A., Alhalaweh A., Velaga S. P.: *Int. J. Pharm.* 407, 63 (2011).
- Greco T., Hunter C. A., Gardiner E. J., McCabe J. F.: *Cryst. Growth Des.* 14, 165 (2014).
- Chan H. C. S., Kendrick J., Neumann M. A., Leusen F. J. J.: *CrystEngComm* 15, 3799 (2013).
- Delori A., Galek P. T. A., Pidcock E., Patni M., Jones W.: *CrystEngComm* 15, 2916 (2013).
- Fabian L.: *Cryst. Growth Des.* 9, 1436 (2009).
- Friščić T., Childs S. L., Rizvi S. A. A., Jones W.: *CrystEngComm* 11, 418 (2009).
- Berry D. J., Seaton C. C., Clegg W., Harrington R. W., Coles S. J., Horton P. N., Hursthouse M. B., Storey R., Jones W., Friščić T., Blagden N.: *Cryst. Growth Des.* 8, 1697 (2008).
- McNamara D., Childs S., Giordano J., Iarriccio A., Cassidy J., Shet M., Mannion R., O'Donnell E., Park A.: *Pharm. Res.* 23, 1888 (2006).
- Lu E., Rodriguez-Hornedo N., Suryanarayanan R.: *CrystEngComm* 10, 665 (2008).
- Friščić T., Jones W.: *Cryst. Growth Des.* 9, 1621 (2009).
- Trask A. V., van de Streek J., Motherwell W. D. S., Jones W.: *Cryst. Growth Des.* 5, 2233 (2005).
- Etter M. C., Reutzel S. M., Choo C. G.: *J. Am. Chem. Soc.* 115, 4411 (1993).
- Willart J. F., Descamps M.: *Mol. Pharmaceutics* 5, 905 (2008).
- Trask A. V., Motherwell W. D. S., Jones W.: *Chem. Commun.* 2004, 890.
- Fucke K., Myz S. A., Shakhshneider T. P., Boldyreva E. V., Griesser U. J.: *New J. Chem.* 36, 1969 (2012).
- Gu C. H., Young V., Grant D. J. W.: *J. Pharm. Sci.* 90, 1878 (2001).
- Zhang G. G. Z., Henry R. F., Borchardt T. B., Lou X. C.: *J. Pharm. Sci.* 96, 990 (2007).
- Takata N., Shiraki K., Takano R., Hayashi Y., Terada K.: *Cryst. Growth Des.* 8, 3032 (2008).
- Childs S. L., Rodriguez-Hornedo N., Reddy L. S., Jayasankar A., Maheshwari C., McCausland L., Shipplett R., Stahly B. C.: *CrystEngComm* 10, 856 (2008).
- Morrison H., Mrozek-Morrison M., Toschi J., Luu V., Tan H., Daurio D.: *Org. Process Res. Dev.* 17, 533 (2013).
- Goyal S., Thorson M. R., Zhang G. G. Z., Gong Y., Kenis P. J. A.: *Cryst. Growth Des.* 12, 6023 (2012).
- Newman A.: *Org. Process Res. Dev.* 17, 457 (2013).
- Padrela L., Rodrigues M. A., Velaga S. P., Fernandes A. C., Matos H. A., de Azevedo E. G.: *J. Supercrit. Fluids* 53, 156 (2010).
- Alhalaweh A., Velaga S. P.: *Cryst. Growth Des.* 10, 3302 (2010).
- Medina C., Daurio D., Nagapudi K., Alvarez-Nunez F.: *J. Pharm. Sci.* 99, 1693 (2010).
- Vogt F. G., Clawson J. S., Strohmeier M., Edwards A. J., Pham T. N., Watson S. A.: *Cryst. Growth Des.* 9, 921 (2008).
- Hušík M., Rohlíček J., Čejka J., Kratochvíl B.: *Chem. Listy* 101, 697 (2007).

*Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2014).*

**V. Sládková<sup>a</sup>, B. Kratochvíl<sup>a</sup>, and E. Dorozhko<sup>b</sup>**  
<sup>a</sup>*Department of Solid State Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague,* <sup>b</sup>*Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia):* **Cocrystallization Screening: Advantages and Pitfalls of Particular Cocrystallization Techniques**

The most common cocrystallization techniques are introduced and their pros and cons are discussed. Many cocrystallization methods have been described but none of them are universally applicable. The methods can be divided into solvent-based and solvent-free methods. The choice of potential cocrystals also contributes to the effectivity of the cocrystallization screening of API (Active Pharmaceutical Ingredient). Cocrystals are an appealing option in drug formulation.