



**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR
SZERVETLEN ÉS ANALITIKAI KÉMIA TANSZÉK
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA**

**HATÓANYAG SZOLVÁTOK GYÓGYSZERIPARI ALKALMAZHATÓSÁGÁNAK
VIZSGÁLATA: SZŰRÉS, KARAKTERIZÁLÁS, KRISTÁLYOSÍTÁS**

Tézisfüzet

Szerző:

Tieger Eszter

Témavezető:

Dr. Pokol György

Témavezető:

Dr. Finta Zoltán

Konzulens:

Dr. Kiss Violetta

ZENTIVA
A SANOFI COMPANY

2017

1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK

Gyógyszerhatóanyagok gyakran rendelkeznek több, különböző szilárd módosulattal. A szilárd fázisok vizsgálata a gyógyszerfejlesztés elengedhetetlen lépése. A módosulatok tulajdonságainak, viselkedésének megértése kritikus fontosságú mind előállítás, feldolgozás, formuláció vagy tárolás során, tehát a gyógyszerkészítmény teljes életciklusa alatt. Különböző szilárd formák eltérő fizikokémiai tulajdonságokkal rendelkezhetnek, melyek a készítmény hatékonyságát, biológiai hasznosulását befolyásolhatják, ezért egy esetleges fázistranszformáció jelentős következményekkel járhat.

Kutatómunkám három részre osztható, melyek a gyógyszerfejlesztés során alkalmazott lépéseket követik. Az első rész a szilárd fázisú szűrés módszertani fejlesztését tűzte ki célul, kitüntetett figyelmet tanúsítva a hidrát és szolvát formák iránt. Öt, szerkezetükben és szilárd fázisaiban jelentősen eltérő modellvegyületet tanulmányoztam egy átfogó szűrési eljárás kifejlesztése érdekében, mely hatóanyagok széles spektrumára alkalmazható. A második rész célkitűzése szolvátok szerkezet-tulajdonság összefüggéseinek feltérképezése és mélyebb megértése volt. Különböző analitikai technikák, többek között termikus analízis, dinamikus gőzszorpció, kritikus vízakaktivitás-vizsgálat, stabilitásvizsgálat, tényleges oldódási sebesség vizsgálata, változtatható páratartalmú por-röntgendiffrakció és egykristály röntgendiffrakció alkalmazásával értelmeztem a molekulák szolvát-, hidrátképzésre való hajlamát, valamint határoztam meg különböző formák stabilitásának határait. A harmadik rész egy kiválasztott hidrát módosulat kristályosítási eljárásának fejlesztését tűzte ki célul. In-line folyamatelemző eszközök (Process Analytical Technology - PAT), úgy mint fókuszált sugár visszaverésének mérésén alapuló szonda (FBRM), gyengített teljes reflexiós infravörös szonda és valós idejű mikroszkópia (PVM) segítségével betekintést nyerhettem a kristályosítási folyamatba, mely alapján egy robusztus eljárást tudtam kifejleszteni.

2. IRODALMI HÁTTÉR

Napjaink legelterjedtebb gyógyszerformái a szájon át, azaz orálisan adagolható készítmények tablettá, kapszula formájában juttatják el a hatóanyagot a pácienshez. A szilárd készítményformulálási módot előszeretettel alkalmazzák könnyebb kezelhetősége és jobb kémiai stabilitása miatt. Ebből adódóan különböző szilárd módosulatok viselkedésének megértése és a racionális formakiválasztás elengedhetetlen a hatóanyagok fejlesztése során.¹

Különböző szilárd fázisok kémiai, fizikai, farmakokinetikai és egyéb tulajdonságai jelentősen eltérhetnek, mely különbségek lényegesen befolyásolhatják a hatóanyag formulálását, a készítmény felszívódását, hatékonyságát, toxicitását és végső soron a biológiai hasznosulást.²

Fejlesztés során a hatóanyagok különböző szerves oldószerekkel, vizes oldószerkeverékekkel kerülnek érintkezésbe, mely hidrát- vagy szolvátképződéshez vezethet szándékosan vagy véletlenül.³ A szolvát- és hidrátképzési hajlam a molekulaméret növekedésével nő. Hidrát kialakulásának valószínűsége a molekula lipofilitásával csökken, míg szolvátképzés gyakorisága nő.⁴ Nagy, összetett szerkezetű molekulák javíthatják illeszkedési hatékonyságukat a szerkezetbe ágyazott oldószermolekulák segítségével és gyakran ezen vendégmolekulák jelenléte a szerkezet stabilitásának előfeltétele.⁵ A vízmolekula kis mérete, valamint hidrogénkötés donor és akceptor képessége révén könnyedén válik a kristályrács részévé stabilizáló elemként vagy hatékonyabb térkitöltés céljából.⁶

Megfigyelhető tendencia mutatkozik a gyógyszerfejlesztésben: a gyógyszerjelölt- és a piacra kerülő gyógyszermolekulák szerkezete egyre összetettebb, lipofilitásuk nő, vízdoldhatóságuk csökken, mely kedvezőtlenül befolyásolja a hatóanyag biológiai hasznosulását.² A vízben való oldhatóság és oldódási sebesség javításának egyik leggyakrabban alkalmazott eszköze a sóképzés. A sóképzés nem pusztán a biológiai hasznosulást növeli, hanem egyúttal a fizikai és kémiai stabilitást is javítja.⁴ A piacon lévő gyógyszerek több mint fele sóként, szilárd készítményben kerül forgalomba.¹ Sók esetén a hidrátképzés nagyobb gyakorisággal fordul elő, mivel a vízmolekulák előszeretettel kötődnek ionos csoportokhoz. Ezzel szemben a töltéssel nem

¹ Y. Qiu, Y. Chen, G. G.Z. Zhang, L. Liu, W. Porter, Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice, 1st ed. Burlington, MA, Academic Press, 2009

² H. G. Brittain, Polymorphism in Pharmaceutical Solids, 1st edition, Marcel Dekker, New York, 1999

³ B. Rodríguez-Spong, Ch. P. Price, A. Jayasankar, A. J. Matzger, N. Rodríguez-Hornedo, General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. Adv. Drug Del. Rev., 2004, 56, 241–274

⁴ R. Hilfiker, Polymorphism in the Pharmaceutical Industry, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2006

⁵ A. J. Matzger, C. P. Price, G. D. Glick, Dissecting the Behaviour of a Promiscuous Solvate Former, Angew Chem Int Ed., 2006; 45(13), 2062-2066

⁶ A. Y. Lee, D. Erdemir, A. S. Myerson, Crystal Polymorphism in Chemical Process Development, Annu Rev Chem Biomol Eng. 2011;2:259-80

rendelkező molekulák hajlamosabbak szolvátképzésre és polimorfíára.⁶ A hidrátok és szolvátok számának növekedése szükségessé teszi ezen szilárd módosulatok kialakulásának, viselkedésének és stabilitásának mélyebb megértését, beleértve a lehetséges fázistranszformációk irányát.

Az oldószermentes (anhidrát) és szolvát/hidrát formák közötti különbség jelentős. Egy anhidrát módosulat egykomponensű rendszer, szabadenergiája a hőmérséklet és nyomás által definiált. Ezzel ellentétben egy szolvát többkomponensű rendszer, melynek szabadenergiája a hőmérséklet, nyomás és oldószeraktivitás függvénye.²

A gyógyszeriparban általában előnyben részesítik a hidrátokat a szolvátokkal szemben, mivel a szerves oldószerekkel ellentétben a víz jelenléte nem vet fel egészségügyi kérdéseket, továbbá a légköri páratartalom révén hidrát módosulatok termodinamikailag stabilak lehetnek általános körülmények között, míg szolvátok mindig metastabilak az anyalúgból eltávolítva.

A szolvátok/hidrátok jelentőségét tovább növeli a szellemitulajdon-védelemben betöltött szerepük. A szellemitulajdon-védelem a gyógyszeripar kulcsfontosságú eleme, mely jelentős gazdasági vonatkozással bír. Egy gyógyszerhatóanyag új szilárd formája alapvetően új és nem triviális felfedezés, továbbá iparilag hasznosítható, vagyis eleget tesz minden kritériumnak, mely egy szabadalmaztatni kívánt terméktől elvárható.⁷ Az originális gyártó igyekszik minden lehetőséget megragadni, szabadalmaztatni a hatóanyag minden releváns szilárd formáját, a szintézisutat vagy a készítményformuláció módját, hogy oltalmi idejét meghosszabbíthassa. Azonban ha a generikus gyártó fedezi fel az új formát, szabadalomsértés nélkül jelenhet meg a piacon termékével.^{7,8}

Mivel a generikus gyártók folyamatosan új szilárd módosulatok után kutatnak, szolvátok lehetőséget teremthetnek, hogy megkerülhessék az originális gyártó szabadalmait. Szerves oldószer tartalmú szolvátok továbbá lehetőséget nyújtanak az *in vitro* kioldódási sebesség növelésére.⁸

Egy racionálisan megtervezett szilárd fázis szűrés célja, hogy minden releváns szilárd fázist előállítson, melyek a fejlesztés során feltűnhetnek, különös tekintettel a termodinamikailag stabil formára.⁹ A legelőnyösebb módosulat kétségtelenül a legstabilabb, mely a legkevésbé hajlamos fázistranszformációra méretnövelés, feldolgozás, formuláció vagy tárolás során.¹ Ugyanakkor a metastabil kristályformák azonosítása is rendkívül fontos, mely hozzájárul a kristályosítási eljárás

⁷ A. Y. Lee, D. Erdemir, A. S. Myerson, Crystal Polymorphism in Chemical Process Development, *Annu Rev Chem Biomol Eng.* 2011;2:259-80

⁸ T. Threlfall, Analysis of organic polymorphs, a review, *Analyst*, 1995, 120, 2435–2460

⁹ P. Augustijns, M. Brewster, *Solvent Systems and Their Selection in Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Springer, 2007

kritikus paramétereinek meghatározásához, valamint a lehető legteljesebb szellemitulajdon-védelmet nyújtja.⁴

Az oldatból történő kristályosítás a leggyakrabban alkalmazott eljárás különböző szilárd fázisok előállítására, mivel oldószerek és kristályosítási körülmények széles skálája alkalmazható, valamint ez az anyagok tisztításának elsődleges módja.¹⁰ Az oldatból történő kristályosítás természeténél fogva elősegítheti metastabil fázisok előállítását az Ostwald-féle lépcső szabálynak megfelelően. A kristályosítás paramétereitől függően egy metastabil forma nukleációja a stabil formáé előtt következik be, amikor kinetikus tényezők kerülnek túlsúlyba.⁷

Az oldószer közvetített fázisátalakulás (kompetitív szuszpenziós kevertetés, maturáció) népszerű módszer a relatív termodinamikai stabilitás meghatározására, segítségével közvetlenül előállíthatók a stabil formák.¹¹ Tehát a szuszpenziós kevertetés módszere a tradicionális szűrési eljárás kiegészítésének tekinthető, mely a molekula jellemzőitől függően stabil anhidrát/hidrát/szolvát fázisokat eredményez. A módszer azon alapul, hogy egy adott vegyület legstabilabb formája rendelkezik a legkisebb oldhatósággal, tehát egy metastabil módosulat telített oldata túltelített a stabil fázisra nézve. Megfelelő idő elteltével a metastabil fázis a stabil módosulattá fog alakulni, hogy megszűnjön a túltelítés és beálljon a termodinamikai egyensúly.¹²

A szilárd fázisú karakterizálás a gyógyszerfejlesztés egyik legfontosabb eleme. A szilárd módosulatok tulajdonságainak megértése elengedhetetlen annak érdekében, hogy minimalizáljuk a formuláció közben fellépő problémákat, hiszen a gyógyszerkészítmény stabilitása azon múlhat, milyen alaposan jellemezték a kiválasztott szilárd fázist.²

Kristályos hidrátok/szolvátok osztályozhatók szerkezetük vagy összetételük alapján. Összetételük szerint megkülönböztetünk sztöchiometrikus és nemsztöchiometrikus rendszereket. Sztöchiometrikus szolvátok meghatározott oldószer/hatóanyag aránnyal rendelkeznek, míg nemsztöchiometrikus szolvátok esetén ez az arány adott határon belül folytonosan változhat.² Sztöchiometrikus szolvátok esetén az oldószermolekula a kristályrács szerves része és elengedhetetlen a kristályszerkezet fenntartásához. Ezzel szemben nemsztöchiometrikus szolvátok esetén az oldószermolekulák leggyakrabban a szerkezet üregeiben, csatornáiban helyezkednek el és leginkább csak térkitöltő szerepet töltenek be. Sztöchiometrikus szolvátok deszolvatációja

¹⁰ P. Augustijns, M. Brewster, Solvent Systems and Their Selection in Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Springer, 2007

¹¹ C.H. Gu.; V. Young, Jr.; D. J. W. Grant, Polymorph screening: influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorphic transformation, J. Pharm. Sci. 2001, 90, 1878-90.

¹² C.H. Gu, V. Young, D.J.W. Grant, Identifying the Stable Polymorph Early in the Drug Discovery–Development Process, Pharm. Sci. 2001, 90, 1878.

definíciószerűen egy új (kristályos vagy amorf) fázishoz vezet, míg nemsztöchiometrikus szolvátok a deszolvatációt követően is megőrizhetik szerkezetüket.⁴

A szerkezet alapján történő osztályozás előnye, hogy a fázis stabilitására következtethetünk belőle, valamint az általánosan alkalmazott analitikai módszerekkel megkülönböztethetők az egyes típusok.³

Kristályos hidrátok a következő három típusba sorolhatók:

- 1) Az ún. izolált helyzetű hidrátok esetén a hatóanyag molekulák elszigetelik a vízmolekulákat, melyek között nincsen közvetlen kapcsolat.
- 2) Csatornahidrátok esetén a vízmolekulák egy csatorna mentén helyezkednek el a rácsban, ahol gyenge kölcsönhatások kialakulhatnak közöttük.
- 3) Az ún. fémion-koordinált hidrátok esetén a vízmolekulák közvetlenül fémionokhoz kötődnek.⁴

Az osztályozás mind szolvátokra, mind pedig hidrátokra alkalmazható a fémion koordinált hidrátok kivételével. Ugyanakkor az ún. izostruktúrális (izomorf) szolvátok viselkedése gyakran analóg a fémion-koordinált hidrátokéval. Ezen típusok sajátossága, hogy kiemelkedően magas hőmérsékleten veszthetik el a beépült oldószert. Előfordulnak ún. vegyes/kevert szolvátok is, melyekben több, különböző oldószermolekula épül a kristályrácsba, általában összemérhető polaritással.²

Gyógyszerhatóanyagok kristályosítása, különösen számos szilárd fázis esetén, a gyógyszeripari gyártási műveletek egyik legkritikusabb eleme. A kristályszerkezet kontroll alatt tartása jelentős probléma mind a kutatás, mind pedig az ipar számára, számottevő tudományos és gazdasági kihívásokat jelentve. A kristályosítási eljárás befolyásolja a feldolgozási műveleteket, szűrést, szárítást, formulációt, ráadásul a gyógyszer hatékonysága is a végső szilárd fázison múlhat. A kívánt szilárd fázis előállítása érdekében alkalmazott stratégiák között szerepel az oltás és megfelelő oldószerválasztás.¹³

Egy robusztus kristályosítási eljárás fejlesztésének alapfeltétele, hogy kellő információval rendelkezünk a szilárd módosulatokról, azok relatív viszonyáról, mely egyúttal rávilágíthat a fázistranszformációk lehetőségére is. Az infravörös sugár kis behatolási mélysége (1-2 μm)¹⁴ miatt a gyengített teljes relaxációs infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR) szonda alkalmazható oldatfázisú spektrumok felvételére szilárd fázis jelenlétében is. A beoltási stratégia megtervezése

¹³ M. Fujiwara, Z. K. Nagy, J. W. Chew, R. D. Braatz, First-principles and direct design approaches for the control of pharmaceutical crystallisation, *J. Process Control*, 2005, 15(5), 493–504

¹⁴ F. M. Mirabella, *Internal Reflection Spectroscopy*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1993

során számos paramétert szükséges figyelembe venni, úgy mint az oltóanyag mennyiségét, az oltóanyag minőségét (szilárd fázist és szemcseméretet), valamint az oltási hőmérsékletet. Az oldhatósági görbe termodinamikailag meghatározott egy adott oldott anyag-oldószer rendszerre. A túltelítési görbe (és a metastabil zóna szélessége) azonban változhat a művelet paramétereitől (hűtési sebesség, keverési sebesség, lépték) függően.¹⁵

A kristályosítási eljárás nyomonkövetésére, az átalakulások kinetikájának vizsgálatára folyamatelemző eszközként többek között infravörös és Raman-spektroszkópiát, fókuszált sugár visszaverésének mérésén alapuló szondát (FBRM), turbidimetriát, valamint valós idejű mikroszkópot (PVM) használnak.

¹⁵ A. S. Myerson Handbook of industrial crystallisation, Butterworth-Heinemann, Boston, USA, 2011

3. KÍSÉRLETI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Alkalmazott modellvegyületek: sitagliptin L-tartarát, bosutinib, axitinib, idelalisib és sofosbuvir. A modellvegyületek szilárd fázisú karakterizálása céljából többek között termikus analízist, dinamikus gőzszorpciót, kritikus vízáktivitás-vizsgálatot, stabilitásvizsgálatot, tényleges oldódási sebesség vizsgálatát, változtatható páratartalmú por-röntgendiffrakciót és egykristály röntgendiffrakciót használtam. In-line analitikai módszerekként, FBRM szondát, gyengített teljes reflexiós infravörös szondát és valós idejű mikroszkópot (PVM) alkalmaztam.

Szuszpenziós kevertetés: Ditabis HLC rázó gép (Ditabis, Pforzheim, Németország)

Differenciál pásztázó kalorimetria: Mettler-Toledo 822e DSC készülék (Mettler-Toledo, Greifensee, Svájc)

Termogravimetria: NETZSCH TG 209 készülék (NETZSCH-Gerätebau GmbH, Németország)

Dinamikus gőzszorpció: DVS Advantage 1 készülék 1 (Surface Measurement Systems, U.K.), Cahn D200 ultra-mikro mérleggel

Változtatható páratartalmú por-röntgendiffrakció: PANalytical X'Pert Pro diffraktométer (PANalytical B.V., Hollandia)

Tényleges oldódási sebesség meghatározása forgó korongos módszerrel: Sirius inForm készülék beépített pH meghatározással és UV spektroszkópiával (Sirius Analytical Instr. Ltd., Forest Row, UK)

Egykristály röntgen diffrakció: Xcalibur, Atlas, Gemini ultra készülék CCD detektorral

Szerkezetmeghatározás por-röntgendiffrakció segítségével: PANalytical Empyrean pordiffraktométer (PANalytical B.V., Hollandia)

Kinetikus oldásgörbe felvétele: Crystal¹⁶ multireaktor rendszer turbidimetriás szenzorral Technobis Crystallization Systems, Alkmaar, the Netherlands)

Kristályosítás: Mettler-Toledo EasyMax munkaállomás (Mettler-Toledo, Greifensee, Svájc) és Radleys Reactor-Ready Lab Reactor (R.B.Radley Co. Ltd, Saffron Walden, Egyesült Királyság)

***In Situ* módszerek**

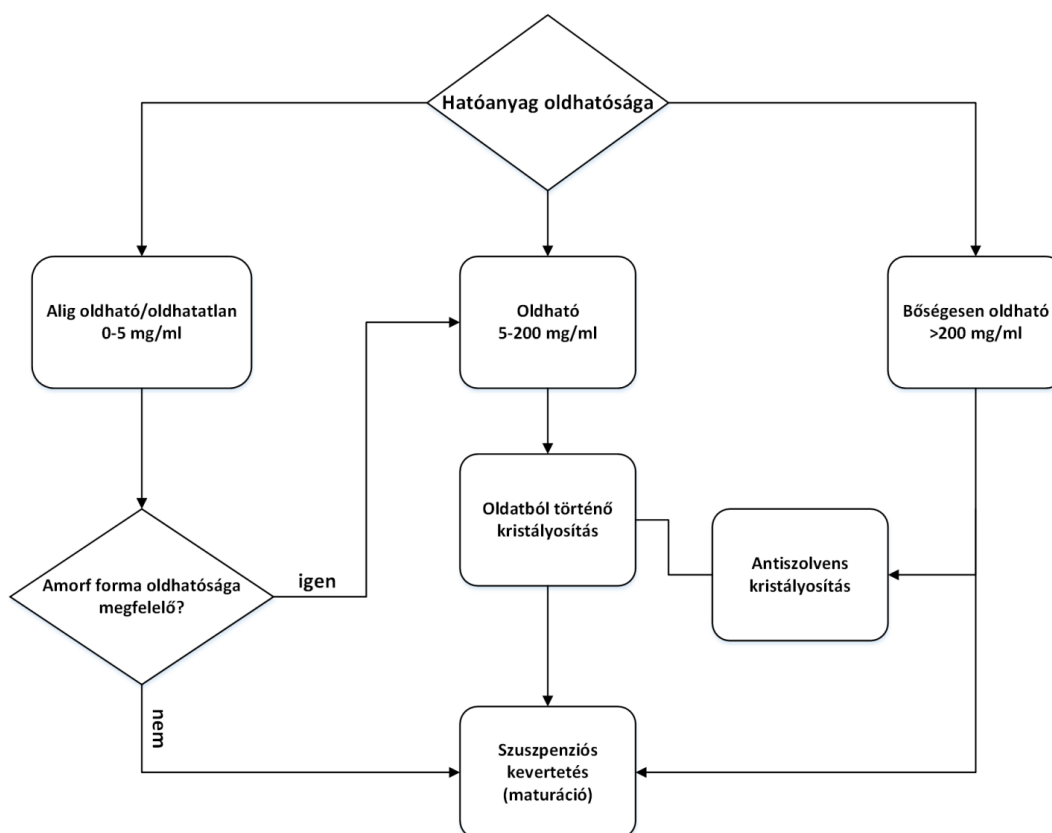
ATR-FTIR spektroszkópia: Thermo Scientific™ Nicolet™ iS™10 FT-IR spektrométer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)merülő szondával és gyémánt ATR kristállyal, FBRM: Mettler-Toledo ParticleTrack G400 FBRM szonda (Mettler-Toledo, Greifensee, Svájc), PVM: Mettler-Toledo ParticleView V19 szonda (Mettler-Toledo, Greifensee, Svájc).

4. EREDMÉNYEK

Kutatómunkám elsődleges célja szolvátok/hidrátok szűrésének, karakterizálásának, stabilitásának és kristályosításának mélyebb megértése volt.

Egy átfogó szűrési eljárást dolgoztam ki, mely egyesítette az oldatból történő kristályosítás és szuszpenziós kevertetés módszerének előnyeit. Az oldatból történő kristályosítás és szuszpenziós kevertetés komplementer módszereknek tekinthetők, melyek segítségével feltérképezhető a teljes szilárd fázis paletta, és teljesebb képet nyerhetünk a vizsgált hatóanyagról. A szuszpenziós kevertetés kísérleti paramétereit (oldószerválasztás, időtartam, hőmérsékletprofil és kiindulási fázis) vizsgáltam és optimáltam. E továbbfejlesztett szűrési eljárás szélesebb spektrumú alkalmazhatóságot biztosított és segítségével több szilárd módosulatot sikerült felfedezni, melyet két használati-minta oltalom tanúsít.^{U1,U2}

A szűrési eljárás során figyelembe szükséges venni a hatóanyag oldhatóságát. Általában nem praktikus olyan oldószereket alkalmazni, melyben a vegyület oldhatósága olyan nagymértékű, hogy az meggátolná a kristályosodást és viszkózus, amorf végtermékhez vezetne. Ugyanakkor a túl alacsony oldhatóság is limitálhatja az oldatból történő kristályosítás és változatos kristályosítási körülmények alkalmazását. Ezért hogy anyagot és időt spóroljunk, kidolgoztam egy olyan szűrési stratégiát, döntési fát, mely figyelembe veszi a hatóanyag oldhatóságát (**1. ábra**).



1. ábra Szilárd fázis szűrési stratégia

A szuszpenziós kevertetés hatékonyan alkalmazható stabil módosulatok közvetlen előállítására, azonban a módszer alkalmazása nem korlátok nélküli. Kémiai szennyezők akár nyomnyi mennyiségben is megátolhatják egy adott fázis nukleációját.¹¹ Nem megfelelő oldhatóság vagy erős hatóanyag-oldószer kölcsönhatás szintén akadályozhatja a stabil fázis létrejöttét.^{A3} Amorf (vagy egyéb metastabil) kiindulási anyag, megfelelően változatos oldószerkeverékek és hőmérsékletciklusok alkalmazásával jelentősen megkönnyíthető a stabil kristályformához vezető (át)kristályosodási folyamat és csökkenthetjük annak a kockázatát, hogy elsiklunk egy lényeges módosulat felett.

A szűrést követően az előállított szilárd fázisok megbízható karakterizálása szükséges. A vizsgált modellanyagok módosulatainak átfogó analitikai jellemzése kiterjedt termikus analízisre, dinamikus gőzszorpció analízisre, kritikus vízakaktivitás-vizsgálatra, stabilitásvizsgálatra, tényleges oldódási sebesség meghatározására, változtatható páratartalmú por-röntgendiffrakcióra és egykristály röntgendiffrakcióra. A vizsgálatok célja az volt, hogy felderítsem a hidrát/szolvátképzési hajlam eredetét, feltérképezzem stabilitásukat és gyógyszeripari alkalmazhatóságukat tekintettel a szolvát/hidrát típusra.^{A1,A2} Az alkalmazott analitikai módszerek

széles skálája jelentős betekintést nyújtott a modellvegyületek szerkezetébe, hozzájárulva a szerkezet-tulajdonság összefüggések feltárásához.

Mivel egy szolvát stabilitása attól függ, milyen szerepet tölt be az oldószermolekula a kristályrácsban, a szolvátképződés okainak, valamint a stabilitást meghatározó kinetikai és termodinamikai tényezőknek meghatározása nélkülözhetetlen a gyógyszerfejlesztés során. Ezen ismeretek birtokában csökkenthetők/megakadályozhatók a nemkívánt fázistranszformációk és megalapozott formakiválasztás hajtható végre.

Vizsgálataim kiderítették, hogy a bosutinib molekulában lévő hidrogéndonor és -akceptor csoportok száma és elhelyezkedése nem teszi lehetővé erős hidrogénkötés kialakulását az anhidrát módosulatban. Az oldószerek kristályrácsba épülése stabilizáló szerepet tölt be, mely nem magyarázható pusztán térkitöltő hatással, hiszen az anhidrát fázis szorosan illeszkedik a rácsban.^{A2} Az oldószermolekulák stabilizáló szerepe abban rejlik, hogy az előzetesen kihasználatlan hidrogénkötésre alkalmas csoportokkal hidrogénhidat létesítenek. Az oldószerszelektivitás az oldószermolekula funkciós csoportjain alapul. A hatóanyag kizárólag azokat az oldószereket építi a kristályrácsába, melyekkel erős hidrogénkötés kialakítására képes. Az észlelt diszkriminatív szolvátképzést egyértelműen a molekula hidrogénkötésre való törekvése vezérli.^{A2}

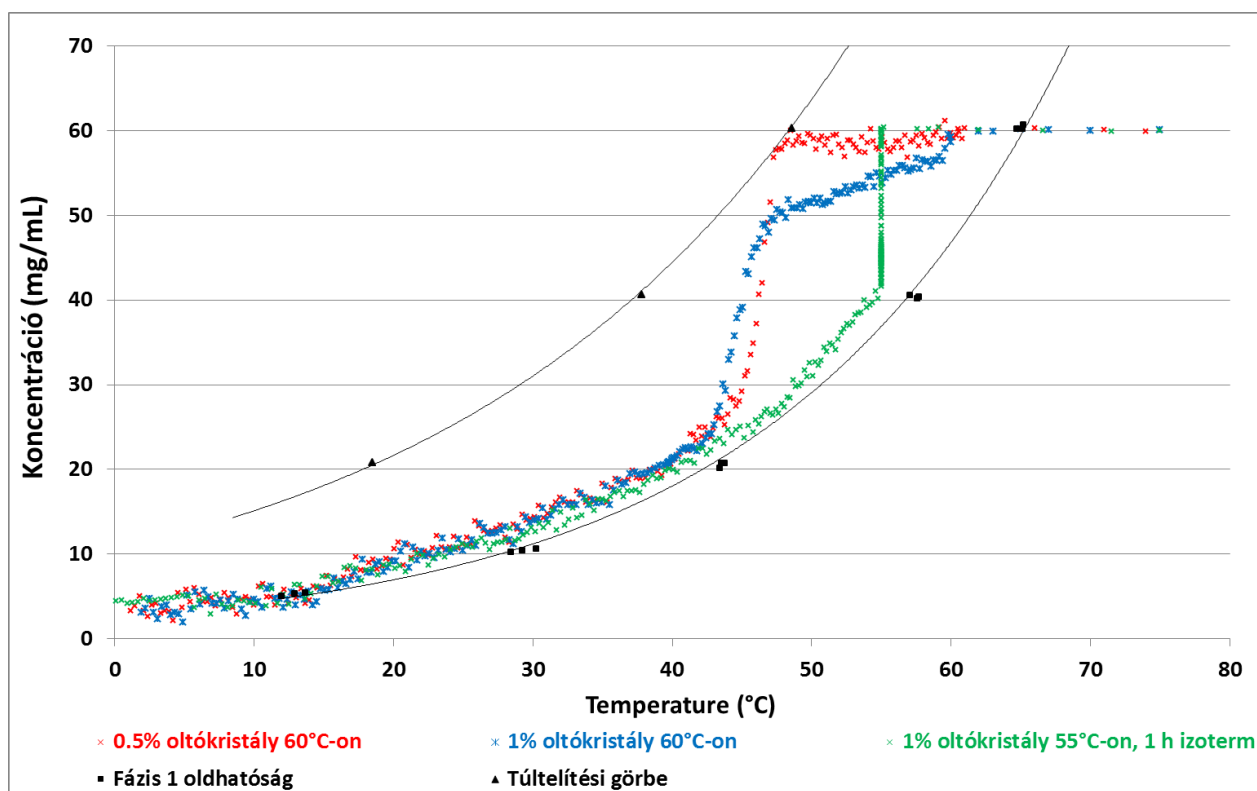
Számos különböző szolvát fázist vizsgáltam különböző analitikai módszerek segítségével, úgy mint termikus analízis, számított kötési energia, tényleges oldódási sebesség vizsgálata, illeszkedési hatékonyság, kritikus oldószer aktivitás, fizikai stabilitás stressz körülmények során, valamint egykristály röntgendiffrakció.^{A2} Megmutattam, hogy a szolvátok stabilitása rendkívül összetett jelenség, és különböző technikák együttes alkalmazása szükséges a megfelelő szilárd fázis kiválasztásához. Megmutattam, hogy analóg szerkezet nem feltétlenül von maga után hasonló stabilitást és viselkedést, valamint, hogy akár kinetikusan stabil fázisok is lehetnek alkalmas jelöltek további fejlesztésre. Rávilágítottam a sztöchiometrikus és nemsztöchiometrikus szolvátok, valamint az egyes szolvát típusok közötti különbségekre. Hidrátok egyértelműen nagyobb fizikai stabilitással rendelkeznek a szolvátokhoz képest, de az ún. kevert szolvátok racionális kompromisszumot jelenthetnek a fizikai stabilitás és az oldódási sebesség javítása között.

Axitinib hatóanyag esetén indiszkrinatív szolvátképzést tapasztaltam. A molekula a konformációs flexibilitásából adódóan változatos szolvát szerkezetekben kristályosodik, melyek között számos izomorf/izostrukturális szerkezet is található. Izomorf szolvátok esetén az oldószer szabályos üregeket tölt ki a szorosan illeszkedő rácsban, ezáltal a deszolvatáció rendkívül magas hőmérsékleten következik be.

Az alkalmazott széleskörű analitikai karakterizálás révén betekintést nyerhettem a sitagliptin L-tartarát hidrátok szerkezetébe is. Csatornaszerű felépítésük és ionos karakterük optimális körülményeket biztosítanak hidrátképzésre. A kristályrács vízhez való nagymértékű affinitását demonstrálja a hozzávetőleg változatlan víztartalom és az alacsony páratartalom értékeken közel függőleges gőzszorpciós izoterma.^{A1} A kristályszerkezet megmutatta, hogy a vízmolekulák hidrogénkötés révén stabilizáló szerepet töltenek be a kristályrácsban. Ugyanakkor a vizsgált hidrátok nemsztöchiometrikus jellegét bizonyítja a változtatható páratartalmú por-röntgendiffrakció és dinamikus gőzszorpció analízis eredménye. Az izostrukturális dehidrát fázisok létrejötte és a dehidratáció nem destruktív folyamata egyértelműen bizonyítja a sitagliptin L-tartarátok nemsztöchiometrikus karakterét.^{A1}

A fáziskiválasztást követően robusztus és reprodukálható kristályosítási eljárás szükséges a kiválasztott szilárd forma megbízható előállítására. Az eljárásfejlesztéshez elengedhetetlen folyamatelemző technológia (PAT) alkalmazása, az összegyűjtött analitikai információk és potenciális fázisátalakulások irányának ismerete.^{A3}

Szisztematikus vizsgálsorozatot alkalmaztam sitagliptin L-tartarát Fázis 1 hemihidrát hűtési kristályosításának módszerfejlesztése során. Ennek érdekében először az oldhatósági és túltelítési görbét határoztam meg turbidimetria segítségével. A metastabil zónát alapul véve különböző oltási protokollok koncentráció görbéit határoztam meg infravörös szonda segítségével (**2. ábra**), míg a részecskepopulációt és szálhosszt (chord length) FBRM szondával követtem.^{A3}



2. ábra Sitagliptin L-tartarát Fázis 1 kristályosításának koncentrációprofiljai és oldhatósági görbéje 2-propanol:víz 8:2 térfogatarányú keverékben

Mivel az FBRM szondával nem a valós szemcseméretéről kapunk képet, PVM szondát alkalmaztam a valós szemcseméret igazolására. Az eljárásfejlesztésben felbecsülhetetlen segítséget nyújtottak az előbb említett folyamatelemző (PAT) eszközök melyek segítségével robusztusan a kívánt polimorfot szolgáltató eljárást sikerült kifejleszteni, mely az eredeti eljáráshoz képest 15%-kal gyorsabb szűrést tesz lehetővé.^{A3}

Tézismunkám elsődleges célja az volt, hogy egy átfogó képet alkossak szolvátok/hidrátok előállításáról, tulajdonságairól és stabilitásáról, valamint, hogy rávilágítsak a szilárd fázisú fejlesztés összetettségére. Egy hatóanyag szilárd fázis palettájának, fizikokémiai tulajdonságainak, kristályosítási paramétereinek, valamint ezen paramétereknek a feldolgozási műveletekre való kihatásának megértése hozzájárul ahhoz, hogy átfogó képet kapjunk a szilárd fázisú fejlesztésről, mely a gyógyszerfejlesztés egyik kritikus szegmense.

5. TÉZISEK

- 1) Átfogó szűrési módszert dolgoztam ki, mely segítségével egy vizsgált anyag több releváns (stabil) módosulata állítható elő. Az oldatból történő kristályosítást a szuszpenziós kevertetés módszerével egészítettem ki. A maturáció kísérleti paramétereit vizsgáltam és optimaltam. Olyan szűrési stratégiát, döntési fát dolgoztam ki, mely figyelembe veszi a hatóanyag oldhatóságát. E továbbfejlesztett szűrési eljárás szélesebb spektrumú alkalmazhatóságot biztosított és segítségével több új szilárd fázist sikerült felfedezni, melyet két használati-minta oltalom tanúsít.^{U1,U2}
- 2) Felderítettem bosutinib hatóanyag szolvátképzési hajlandóságának okait. A molekulában lévő hidrogendonor és hidrogénakceptor csoportok száma és elhelyezkedése nem teszi lehetővé erős hidrogénkötés kialakulását az anhidrát módosulatban. Az oldószerek kristályrácsba épülése stabilizáló szerepet tölt be, mely nem magyarázható pusztán térkitöltő hatással. Az oldószermolekulák az előzetesen kihasználatlan hidrogénkötésre alkalmas csoportokkal létesítenek hidrogénhidat. Az észlelt diszkriminatív szolvátképzést egyértelműen a molekula hidrogénkötésre való törekvése vezérli.^{A2}
- 3) Számos különböző módszer, úgymint termikus analízis, számított kötési energia, tényleges oldódási sebesség vizsgálata, illeszkedési hatékonyság, kritikus oldószer aktivitás, stressz körülmények alkalmazása, valamint egykristály röntgendiffrakció segítségével megmutattam, hogy analóg szerkezet nem feltétlenül von maga után hasonló stabilitást és viselkedést; továbbá rávilágítottam a sztöchiometrikus és nemsztöchiometrikus szolvátok, valamint az egyes szolvát típusok közötti különbségekre. Hidrátok egyértelműen nagyobb fizikai stabilitással rendelkeznek a szolvátokhoz képest, de az ún. kevert szolvátok racionális kompromisszumot jelenthetnek a fizikai stabilitás és az oldódási sebesség javítása között.^{A2}
- 4) Megállapítottam, hogy a sitagliptin L-tartarát hidrátok nemsztöchiometrikus hidrátok. Bár víztartalmuk állandónak bizonyult, dehidratáció során megtartják szerkezetüket és ún. izostrukturális dehidrátokká alakulnak. Dehidratációjuk nem destruktív jellegéből adódóan definíciószerűen nemsztöchiometrikus hidrátoknak tekintendők. Bár a nemsztöchiometrikus hidrátok alapvetően kerülendőek a gyógyszeriparban, megmutattam, hogy kivételes esetekben alkalmas jelöltként szolgálnak gyógyszerfejlesztésre.^{A1}
- 5) Szisztematikus vizsgálatsorozat és folyamatelemző eszközök (ATR-FTIR, FBRM és PVM szonda) alkalmazásával kifejlesztettem sitagliptin L-tartarát Fázis 1 hűtéses kristályosításának eljárását, mely robusztusan a kívánt polimorfot szolgáltatja és az eredeti, nem optimalt eljáráshoz képest 15%-kal gyorsabb szűrést tesz lehetővé.^{A3}

6. ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGEK

Az értekezésben ismertetett példák valós gyógyszeripari problémák megoldását célozták. Ennek megfelelően az eredményeket, levont következtetéseket integráltuk a mindennapi gyakorlatba.

A kidolgozott átfogó szűrési módszert rutinszerűen alkalmazzuk. Mivel minden hatóanyag más tulajdonságokkal, viselkedéssel jellemezhető, ezért nem létezik univerzális eljárás a szűrés kivitelezésére és sosem lehetünk biztosak abban, hogy minden releváns szilárd módosulatot felleltünk. A javasolt döntési fa, valamint a szuszpenziós kevertetés módszere a hatóanyagok eltérő oldhatóságából fakadó nehézségekre nyújt megoldást.

A szolvát-/hidrátképződést meghatározó tényezők megértése elengedhetetlen a gyógyszerfejlesztés során. Bár a nemsztöchiometrikus hidrátok alapvetően kerülendők a gyógyszeriparban, az elnevezés nem feltétlenül von maga után folytonosan változó víztartalmat. Megmutattam, hogy kivételes esetekben nemsztöchiometrikus hidrátok is alkalmas jelöltként szolgálhatnak gyógyszerfejlesztésre.

Az értekezés kitért szolvátok/hidrátok szerkezet-tulajdonság összefüggéseire, a különböző szolvátcsoportok közötti eltérésekre. A bemutatott eredmények hozzájárulnak e többkomponensű rendszerek megismeréséhez és megértéséhez, valamint segítséget nyújthatnak a fáziskiválasztás folyamatában.

A kristályosítási eljárás fejlesztése során alkalmazott szisztematikus vizsgálat sorozat egyéb szilárd fázisok kristályosítási eljárásfejlesztésének alapjául szolgálhat.

7. KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés alapját képező közlemények:

Megadott használatiminta-oltalom:

- U1. J. Richter, K. Jarrach, V. Kiss, E. Tieger, J. Havlíček, O. Dammer, Crystalline modification 2 of (3r)-3-amino-1-[3-(trifluoromethyl)-6,8-dihydro-5h-[1,2,4]triazolol[4,3-pyrazin-7-yl]-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-1-one 1-tartrate, CZ27898 (U1), 13.01.2015, International Application No.: PCT/CZ2016/000001
- U2. J. Richter, K. Jarrach, V. Kiss, E. Tieger, J. Havlíček, O. Dammer, Crystalline modification 3 of (3r)-3-amino-1-[3-(trifluoromethyl)-6,8-dihydro-5h-[1,2,4]triazolol[4,3-pyrazin-7-yl]-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-1-one 1-tartrate, CZ27930 (U1), 13.01.2015, International Application No.: PCT/CZ2016/000002

Közlemény:

- A1. E. Tieger, V. Kiss, Gy. Pokol, Z. Finta, M. Dušek, J. Rohlíček, E. Skořepová, P. Brázda, Studies on the crystal structure and arrangement of water in sitagliptin L-tartrate hydrates *CrystEngComm*, **2016**, 18, 3819-3831. [IF: 3,849 (2015), I.:4 (független 3)]
- A2. E. Tieger, V. Kiss, Gy. Pokol, Z. Finta, J. Rohlíček, E. Skořepová, M. Dušek, Rationalization of the formation and stability of bosutinib solvated forms, *CrystEngComm*, **2016**, 18, 9260-9274. [IF: 3,849 (2015), I.:2 (független)]
- A3. E. Tieger, V. Kiss, Gy. Pokol, Z. Finta, Crystallization of a salt hydrate with a complex solid form landscape, *CrystEngComm*, **2017**, 19, 1912-1925, [IF: 3,849 (2015)]

Poszter (angol nyelven):

1. E. Tieger, V. Kiss, Gy. Pokol, Z. Finta, M. Dušek, J. Rohlíček, E. Skořepová, Studies on the crystal structure and arrangement of water in sitagliptin L-tartrate hydrates, Summer School on Crystal Shape Engineering, ETH Zurich, Zürich, Svájc, 2015. Július 6-10.

Előadás (angol nyelven):

1. E. Tieger, V. Kiss, Gy. Pokol, Z. Finta, Pharmaceutical hydrates and solvates Oláh György Doktori Iskola XIII. Konferenciája, Budapest, 2016. Február 11.