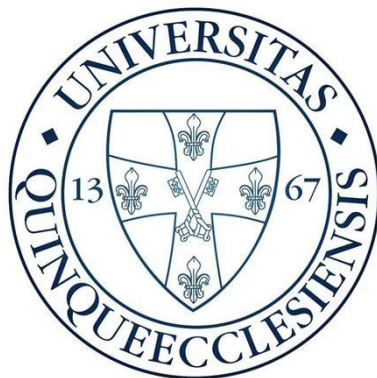


Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Tuberkulózisellenes többhatóanyagok kokristályok
és nano-kokristályok: keletkezés előrejelzése,
polimorfijuk szabályozása és gyógyszerterápiás
előnyei**

Salem Ala'

Témavezető: Dr. Secenji Aleksandar



Programvezető: Prof. Dr. Pál Perjési

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Erika Pintér

Gyógyszertechnológiai és Biofarmáciai Intézet
Gyógyszertudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem

**Pécs
2021**

1. Bevezetés

1.1. Szilárd hatóanyag formák

A hatóanyagok többnyire szilárd halmazállapotúak, sokféle formában létezhetnek, melyek tulajdonságaikban jelentősen eltérhetnek. Ez különböző biofarmáciai, kémiai, fizikai és mechanikai tulajdonságokhoz vezet [1]. A szilárd hatóanyagokat, amorf és stabil kristályos csoportokba sorolhatjuk [2]. A molekula által meghatározott kristályszerkezet számos szilárdtest tulajdonságot befolyásol, nagymértékben befolyásolva annak felhasználását. Ez egyszerre jelent kihívást és lehetőséget, hogy új, előnyös tulajdonságú szilárd formákat (sók, kokristályok) fejlesszünk [3]. A már meglévő gyógyszerek új, kristályos, többkomponensű formáinak felfedezése fontos, mivel ezekkel módosíthatók a szilárd halmazállapotú gyógyszerek tulajdonságai [4] és hatékony, biztonságos és költséghatékony gyógyszer állítható elő a betegek számára, ami nagymértékben függ a fizikai-kémiai tulajdonságoktól [5].

1.2. Gyógyszer kokristályok

A hatóanyagok fizikai és kémiai tulajdonságainak javítása érdekében gyógyszer kokristályokat alkalmaznak. A bioaktivitás, oldékonyság, oldódási sebesség, fizikai stabilitás [6, 7] és higroszkóposág [6, 8] kokristályosítással módosítható.

A kokristályok kristályos entitások, amelyek gyenge intermolekuláris kölcsönhatások révén jönnek létre egy hatóanyag és egy gyógyszerészetileg elfogadható koformer között sztöichiometrikus arányban. A kokristályosítást sikeresen alkalmazták a hatóanyagok tulajdonságainak javítására, anélkül, hogy szükség lenne ionizálható csoportok meglétére [9]. Általánosságban a kokristályok jelenleg elfogadott meghatározása a következő: "egyfázisú szilárd anyagok, amelyek több, mint egy féle molekulából állnak sztöichiometrikus arányban, és amelyek nem egyszerű sók vagy szolvátok [10].

A molekulát, amely a hatóanyaggal kokristályt képez, koformernek nevezzük. A koformert annak biztonságossága és farmakológiai inertsége alapján választjuk ki [11]. A megfelelő koformer kiválasztása elősegíti a kívánt farmakológiai és fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező gyógyszerkészítmények hatékony és eredményes kifejlesztését [12]. A koformerek gyógyszeres terápiban felhasználható anyag molekulák. Ennek ellenére, a koformer is lehet hatóanyag (gyógyszer-gyógyszer kokristály) [13].

A fix dózisú kombináció (FDC) kifejlesztése céljából [14], a gyógyszerészeti gyógyszer-gyógyszer kokristályok kényelmes megoldást nyújtanak, amikor az adott betegséget hatóanyagok kombinációjával kívánják kezelni [15]. Ezért a gyógyszer-gyógyszer kokristályok formulálásának fő célja nemcsak a hatóanyag fizikai-kémiai tulajdonságainak módosítása, hanem kombinált gyógyszer előállításának lehetősége is, mely csökkenti a betegek adagolási terhet, valamint a gyógyszerelési hibákat [16].

A gyógyszer-gyógyszer kokristályok racionális tervezése nagyobb kihívást jelent, mint az egy hatóanyagot tartalmazó kokristályoké, mert a kokristályt képző hatóanyagokat a gyógyszeres terápia alapján választják ki, nem pedig a kristály mérnökség szempontjai alapján. Kristály mérnökség szupramolekuláris szinten vizsgálatokkal hasznos betekintést nyújt a gyógyszer-gyógyszer kokristályok tervezésébe [15].

1.2.1. Nano-kokristályok

A hatóanyag oldódási sebességének javítását célzó aprítás vagy őrlés jellemzően a részecskeméret csökkentése érdekében történik [17]. A nanoméretű kristályok jelentős figyelmet kapnak az orvostudományban, főleg kivételes fizikai-kémiai tulajdonságaik miatt, mint például nagy felület és alacsony sűrűség [18]. Általában a nanokristályok módosítják a farmakokinetikai tulajdonságokat, valamint fokozzák a felszívódást és javítják a disztribúciót. A kokristály és nanokristály előállítási technológia gyors fejlődésével a nano-kokristályok, (többkomponensű nano-méretű kristályok) javítják a hatóanyag tulajdonságait azáltal, hogy egyesítik a nano- és a kokristályok előnyeit. Sajnálatos módon gyógyszerészeti felhasználású nano-kokristályról korlátozott számú publikációban számoltak eddig csak be, valószínűleg az összetett elkészítési technológia miatt. A nanoméretű kokristályok ígéretes lehetőségeik ellenére, a nanotechnológia és a kokristályosítás határterületén végezt kutatások még gyerekcipőben járnak [19, 20].

1.2.2. Kokristály polimorfizmus

A polimorf formák ugyanazon kémiai vegyület különböző kristályszerkezeteire utalnak. A polimorfizmus azonban nagymértékben befolyásolhatja a hatóanyag tulajdonságait, mint például az olvadáspontot, a stabilitást, az oldhatóságot, a higroszkópositást és a biohasznosulást. Ezért a hatóanyag polimorf viselkedésének vizsgálata kritikus szerepet játszik a gyógyszerfejlesztésben [21, 22]. Mindazonáltal a publikált polimorf kokristályok

száma korlátozott, annak ellenére, hogy a kristályos hatóanyagok polimorfizmusa gyakori jelenség [23].

A polimorf képződés előrejelzését és szabályozását a fizikai-kémi legnagyobb kihívásai között tartják számon [24]. Kristályosítás során a gócképződés szabályozása tekinthető elsődleges módszernek a kivánt polimorf létrehozásában. Oldatkristályosításban a polimorf magképződés szabályozására széles körben alkalmazott módszer a különböző oldószer alkalmazása [25].

1.3. Kokristály készítés

Kokristályok számos technikával előállíthatók, mint pl. a szilárd halmazállapotú kokristályosítás [26], folyadék fázisú kokristályosítás, beleértve az oldószer bepárlást (SE), az ultrahang kristályosítás [27] és a magas nyomású homogenizálás (HPH) [28]. Az ultrahang által elősegített kokristályosítás előnyös új módszer a kokristályok előállítására [29]. A HPH széles körben alkalmazott technológia [28].

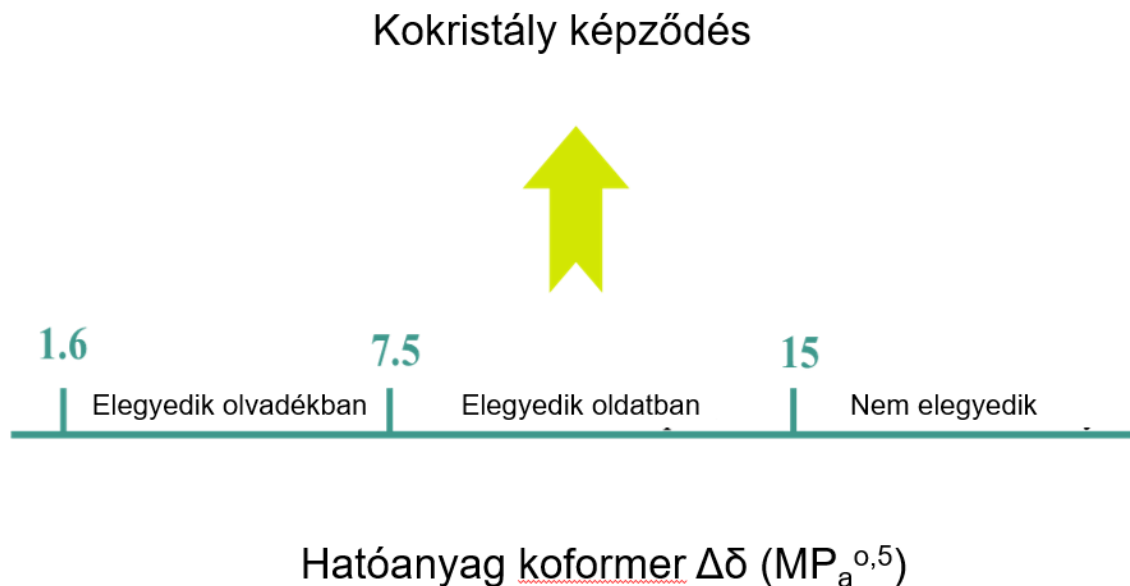
Számos paraméter befolyásolja a folyadék-fázisú vagy oldatkristályosítást, beleértve a túltelítettséget vagy az oldószer választást. A megfelelő oldószer kiválasztása elősegítheti a kokristályok tervezését [30]. A szerves folyadékokat fizikai és kémiai tulajdonságok, például a polaritás és a hidrogénkötések kialakításának képessége alapján jellemezhetjük. A hidrogénkötés donor (HBD) képességét α -val határozzuk meg, amíg β a hidrogénkötés acceptor (HBA) vagy elektrópár donáló képesség. A polaritás/polarizálhatóság paramétereit π^* -vel jelöljük [31]. Ezeket és ehhez hasonló oldószer tulajdonságokat a Hansen oldhatósági paraméterek segítségével lehet megbecsülni (HSPs).

1.3. Hansen oldhatósági paraméterek

A HSPs egy olyan megközelítés, ahol a folyadékok teljes kohéziós energiáját atomi diszperziós (δ_d), dipól-dipól/poláris kölcsönhatások (δ_p) és hidrogénkötés (δ_h) hozzájárulásokra osztják fel. A HSP-kben a δ_h hozzájárulást hidrogénkötés donor (δ_{hDon}) és akceptor (δ_{hAcc}) értékekre osztják. Egy adott folyadékpár esetében, minél közelebb vannak a

HSP értékek a HSP térben, annál nagyobb a hasonlóságuk, következésképpen pedig erősebb az affinitásuk [32].

Mivel a kokristályok képződhetnek eutektikus olvadék révén, Mohammad és munkatársai 2011-ben [32] az elegyedési képeséget vették alapul, hogy megjósolják a kokristály képződést. A HSP-ket sikeresen alkalmazták indometacin különböző koformerekkel való kokristályosításának sikeres előrejelzésére és irányítására. Bár a paraméterek határértékét Greenhalgh és munkatársai szerint, ami előrejelzi az elegyedést " $\Delta\delta_i$ kisebb, mint $7 MP_a^{0.5}$ ", nem eléggé pontosan alkalmazható HSP-ekkel, mivel azt a Hildebrand oldhatósági paraméterhez tervezték, nem pedig a HSP-hez. [33] (**1. ábra**). A HSP egyik előnye, hogy egyszerű elméleti megközelítés, amely kizárólag a molekulák kémiai szerkezetének ismeretét igényli [34].



1. ábra. HSP értékek értelmezése a kristályképződés előrejelzésében

1.4. Tuberkulózis

A kokristályok számos lehetőséget kínálhatnak a tuberkulózis (TB) FDC-k stabilitásának fokozására. A TB általában *Mycobacterium tuberculosis* által okozott fertőző betegség [35], amely továbbra is a halálozás egyik fő oka globálisan [36]. A TB kezelése többféle gyógyszer hosszútávú alkalmazását teszi szükségessé. A szokásos terápia két hónapon át tartó izoniazid (INH), rifampicin (RIF), pirazinamid (PZA) és etambutol (EDH) alkalmazásából áll, melyet

további négy hónapon keresztül tartó INH és RIF alkalmazása követ [37]. Habár a multirezisztens TB (MDR-TB) fékentartása sikertelen [38, 39] és a kezelési eredmények továbbra is gyengék [40], addig a gyógyszeres kezelés nagyon keveset fejlődött [35]. Megelőzésre egyetlen vakcina áll rendelkezésre, a Bacillus Calmette-Guérin (BCG), ami 20%-kal csökkentheti a fertőzés kockázatát az oltott gyermekek esetében, és 60%-kal csökkentheti a fertőzés aktívvá válásának kockázatát [41].

Azoknak a betegeknek, akiknek több elsővonalbeli TB kezelésük sikertelen volt, drága, második vonalbeli TB-szereket kell alkalmazniuk, melyek közé tartoznak az aminoglikozidok, a polipeptidek, a fluorokinolok, a cikloszerin, és a 4-aminoszalicilsav (4-ASA) [42]. Számos ilyen antibiotikumot évtizedekkel ezelőtt fejlesztettek ki, toxikus mellékhatásokat okoznak, alkalmazásuk nehézkes és gyenge hatással rendelkeznek a *Mycobacterium tuberculosis* ellen [35]. Az MDR-TB kezelése legalább négy hatékony antibiotikummal ajánlott 18-24 hónapon keresztül [37, 43]. Eközben a vizsgálatok célja a MDR-TB rövidebb és kevésbé megterhelő kezelési módjainak felfedezése [40, 44].

Kokristályokat korábban már alkalmaztak a TB antibiotikumok klasszikus fix dózisú kombinációk előnyeinek fokozására. INH-koffein/vanillinsav kokristályok nagyobb stabilitással rendelkeznek a klasszikus gyógyszerkombinációhoz képest [45]. Kimutatták, hogy a 4-ASA izonikotinamiddal rendelkező kokristályai jobb oldhatósággal és stabilitással rendelkeznek [46], a 4-ASA INH-val alkotott kokristályai pedig termikusan stabilabbak [47]. A 4-ASA és a szulfametazin kokristályban alkalmazott kombinációja szintén ajánlott azok tuberkulózis elleni szinergikus hatása miatt [48].

2. Célkitűzések

Ezen értekezés célja a tuberkulózis elleni gyógyszerek gyógyszeres terápia szempontjából előnyös kokristályainak előállítás.

Először Hansen oldhatósági paramétereket vizsgálunk mint elméleti kokristályképződést előrejelző eszközt:

Célunk a HSP-k, mint kokristályképződést előrejelző eszköz felhasználásának validálása, és a koformerek kiválasztásához kiszámított molekuláris deskriptorok határértékeinek meghatározása.

Másodszor, oldószer-függő kristály polimorf szabályozás:

Célunk meghatározni azokat a fő oldószer paramétereket, amelyek szerepet játszanak a kokristály polimorfok előállításában, különböző 4-aminoszalicilsav-szulfametazin kokristály polimorf formák előállításán keresztül. A tanulmány célja a kokristály polimorf képződésének szabályozása megfelelő oldószer kiválasztással.

Harmadszor, a 4-aminoszalicilsav-szulfametazin nanoméretű kokristálya előállítása:

Célunk a nanoméretű kokristályokat előállítani és jellemezni, megvizsgálni a nanoméretezés és a kokristályosítási technológia kombinálásának az oldhatóság növelésére kifejtett előnyeit. Célunk összehasonlítani a nagynyomású homogenizálást és a nagyteljestményű ultrahangot, valamint az előállítási körülmények hatását a keletkezett kokristályokra.

Végül, tuberkulózis elleni kokristályok előállítása:

Célunk stabil fix dózisú kombinációkat előállítani négy elsővonalbeli TB-elleni gyógyszer két kokristályával, valamint értékelni a kokristályok által előidézett fix dózisú kombinált dózisforma fizikai-kémiai tulajdonságok javulását.

3. Kísérleti módszerek és eredmények

3.1. Hansen oldhatósági paraméterek, mint a kokristályképződés előrejelzés eszköze

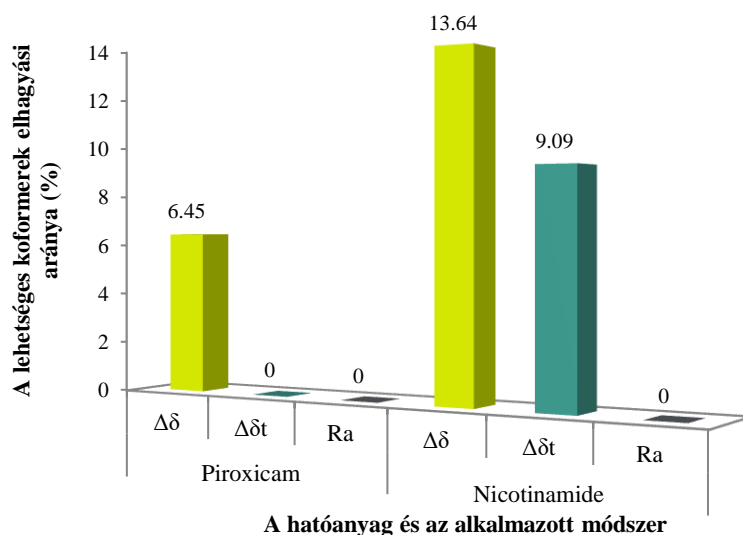
Validálás után a HSP-k vizsgálata ígéretes módszer lehet az elméleti kokristály szűrésben, megerősítheti a hatóanyag és koformer elegyedését, ami a kokristályosodás előfeltétele, azonban a határértékek újraértékelésére és finomítására van szükség, mielőtt ez a módszer rutinszerűvé válik a gyógyszerészeti kokristályok előállításában. A tanulmány célja a HSP-k megbízhatóságának értékelése a különböző hatóanyagok publikált kokristályainak kialakulási előrejelzésében, különböző számítási módszerek összehasonlítása oldhatósági különbségekben, és végül meghatározni a HSP-k korlátait a kokristály-szűrés során. A megállapított határértékeket koformerek tesztsorával pontosítottuk, hogy pontosan előrejelezzék a kokristályok képződését. Ezen túlmenően a kokristályokat összehasonlítottuk az eutektikumokkal annak megállapítása érdekében, hogy a HSP-k segítségével meg tudjuk különböztetni ezeket a szorosan kapcsolódó gyógyszerformákat.

3.1.1. Módszerek

A karbamazepin, a teofillin és a koffein 109 publikált koformerét alkalmaztuk gyakorló érték halmazként, hogy értékeljük a HSP-k kokristály képző előrejelző képességét. A HSP értékeket a Hansen Solubility Parameters in Practice (HSPiP) 5.0.11 verziójú szoftverével számoltuk ki. Ezen felül 16 egyéb deskriptor értéket is számoltunk. Statisztikai elemzést végeztünk a különböző számítási megközelítések hatékonyságának és határértékeinek meghatározására. A paraméterek a kokristályok képződésének előrejelző képességét statisztikai mérőszámokkal jellemezzük: specificitás, érzékenység, kiesési és elhagyási arány, pontosság és precizitás. Végül, a piroxikám 44, valamint a nikotinamid 27 publikált koformerét alkalmaztuk teszt halmazként a határértékek értékelésére és a különböző megközelítések összehasonlítására.

3.1.2. Eredmények és diszkusszió

Értékeljük a HSP-eket, mint a gyógyszerészeti kokristályképződés előrejelző eszközét. Három hatóanyag koformerét alkalmaztuk, majd az eredményeket két másik hatóanyag koformerével teszteltük. A $\Delta\delta$ korábbi határértékét ($7MP_a^{0.5}$) validáltuk, és az újonnan meghatározott határérték ($8.18MP_a^{0.5}$) nem mutatott jelentős különbséget a specifikusság és az érzékenység tekintetében. A 16 számított deskriptor adatainak felhasználásával javasoltuk a $\Delta\delta$ és Ra alkalmazását $16,87$, illetve $17,64MP_a^{0.5}$ határértékekkel. Ez egy egyszerű, de hatékony módszer a lehetséges koformerek kiválasztására, amely a teszt halmaz vizsgálatánál $73,8$ - 85% -os hatékonysággal történt. Mindazonáltal ez a módszer kizárhat néhány koformert, amelyek a tesztek alapján nem elegendőnek lettek besorolva. Ezek azonban a hatóanyaggal kokristályt képeztek. Az elhagyási arány 13.64% volt a $\Delta\delta$ alkalmazásával. Ugyanakkor a $\Delta\delta_i$ alacsonyabb elhagyási arányt mutatott (9.09%) és még alacsonyabb volt az Ra (0%) esetében a koformerek tesztcsoportjára (**2. ábra**). Ez ugyan korlátozhatja a HSP alkalmazását a kokristályképződés előrejelzésében, azonban mégis hasznos lehet nagy számú koformer kiszűrésében. A statisztikai adatok minőségét befolyásolja a kísérletek elégtelen száma, de különösen a sikertelen kokristályosodásról szóló korlátozott számú publikáció. Az eredmények minőségét befolyásolja továbbá a publikált kísérletek jellege, mivel a koformerek kiválasztása kémiai intuitív vagy szintonok alapján történt.



2. ábra. Az egyes módszerek százalékos elhagyási aránya

3.2. Oldószer-függő kokristály polimorf szabályzás

A több gyógyszerből álló kokristályok kényelmes megoldást jelentenek, ha egy adott betegséget hatóanyagok kombinációival kezelnek, mint például a tuberkulózist is [49]. Korábban a 4-ASA-SMT kokristály két polimorf formájáról számoltak be. Ezeknek a különböző módszerekkel előállított kokristályformáknak eltérő termodinamikai stabilitásuk volt, ahol az I forma termodinamikailag stabilabbnak bizonyult, mint a vizes oldatban lévő II forma [48]. Azonban a legjobb tudomásunk szerint nem publikáltak további részleteket ennek a kokristálypárnak a szelektív polimorf kokristályosításáról, és nem számoltak még be a keletkezett kokristály polimorf szabályozásáról oldószer paraméterek alkalmazásával.

Ennek a tanulmánynak a célja a különböző oldószer hatásának vizsgálata a két hatóanyag-kokristály polimorfjainak előállítására az oldószer gyors bepárlásának módszerével. Erre a célra kiszámoltuk a HSP-eket, hogy kiválasszuk a megfelelő oldószeret a hidrogénkötés (δ_h) hozzájárulásuk alapján, mivel ez a legfontosabb kristályképző paraméter. Megpróbáltuk megmagyarázni az oldószer hatását hidrogénkötés és polaritás szempontjából. Ezen vizsgálat fő feltételezése az, hogy a HSP-k szisztematikus variációja az oldószer és a kokristály alkotóelemei között hatással lesz a kokristályosodási folyamatra és befolyásolja a különböző kokristály polimorf formák képződését, feltéve, hogy ez a különbség azon a határon belül van, amely lehetővé teszi a kokristályok képződését. Mivel a

hatóanyagok oldószer elpárologtatásával történő kristályosodását a telítettség is befolyásolja [50], a HSP-k általi oldhatóság ismerete hozzájárulhat a kokristály tervezéséhez.

3.2.1. Módszerek

Nyolc különböző, alacsony forráspontú és nem mérgező oldószert választottunk ki a δ_H HSP-k alapján. A kokristályokat az oldószer gyors bepárlásával állítottuk elő, 4-ASA-t és SMT-t 1:1 molarányban feloldva 60 ml oldószerben. A teljes feloldódást követően az oldatokat gömblombikba helyeztük, és egy rotációs vákuumbepárlóhoz csatlakoztattuk 90 fordulat / perc fordulatszámra. Az oldószer bepárlását 55°C és 23°C-on (szobahőmérséklet) hajtottuk végre. Végül 1:1 molarányú fizikai keveréket állítottuk elő a hatóanyagok mozsárban, pisztillussal történő kézi keverésével, elkerülve a túlzott őrlést a fázisváltás kockázatának csökkentése érdekében. A keletkezett terméket por-röntgendiffrakcióval, differenciális pásztázó kalorimetriával, Fourier transzformációs infravörös spektroszkópiával, valamint mikro-Raman spektroszkópiával (μ Raman) jellemeztük, Végül pásztázó elektronmikroszkóppal felvételeket készítettünk és megvizsgáltuk a kokristályok hosszútávú stabilitását.

3.2.2. Eredmények és diszkusszió

A HSP-ken alapuló szisztematikus oldószer-variáció hatása a kokristályosítási folyamatra, mint kezdeti feltételezés, egy új 4-ASA-SMT kokristály polimorfot eredményezett. Az oldószer fő szerepe az oldott molekulák szolvatálása, még az oldat kristályosításnak az első lépése deszolvatálás. Az egyszerű számításokkal nyert HSP-kből számított deskriptorok, mint a δ_d , δ_p , δ_h , δ_{hDon} , δ_{hAcc} betekintést nyújthatnak az oldószer és az oldott molekula közötti kölcsönhatások jellegébe és erősségébe. Ez közvetlenül befolyásolhatja a kristályosodás folyamatát és ezáltal a keletkező kristályszerkezetet. Úgy tűnik, hogy egy oldószer hidrogénkötés akceptor képessége (δ_{hAcc}) jobban befolyásolja a polimorfképződést, mint a hidrogénkötés donor képessége. Oldószerek magasabb δ_{hAcc} értékkel befolyásolták a 4-ASA savas tulajdonságait, amelyek indukálhatták a SMT amidin-imidin tautomer átalakulását. Az új forma szerkezeti vizsgálata Raman spektroszkópiával a C=N és a C=C értékekhez rendelt vibrációs sávok arányának változását mutatta az SMT pirimidin gyűrűjében. Ez alátámasztotta a feltételezésünket, hogy az SMT tautomerizációja megtörtént. Ennek a feltételezésnek a megerősítéséhez azonban az új polimorf forma további szerkezeti

vizsgálatait kell elvégezni. További vizsgálatokra van szükség a különböző oldószer-paraméterek formaképződésre gyakorolt hatásának és mértékének felméréséhez is a keletkezett polimorfok termodinamikai paramétereinek összefüggésében. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy a HSP-ken alapuló oldószer választás hatékony eszköz lehet a polimorf szűrés során, és jelentős szerepet játszhat a kokristály polimorfok előállításában.

3.3. 4-aminoszalicilsav-szulfametazin nanoméretű kokristályai

A nanoméretű kokristályok ígéretes lehetőségeket kínálnak, azonban a kokristályok és a nanotechnológia határterületén végzett kutatások még “gyerekcipőben” járnak [19, 20]. Úgy tűnik, hogy a nanokristályok javítják a hatóanyagok tulajdonságait azáltal, hogy egyesítik a nanokristályok és a kokristályok előnyeit [51]. Irodalmi adatok alapján “szinergikus hatást” értek el, amikor a kokristályosítást és a nanotechnológiát ötvözték. Arról számoltak be, hogy a furoszemid-koffein nano-kokristályok oldott koncentrációja több, mint háromszorosa a furoszemid nanokristályokénak, valamint a nano-kokristályok oldódási sebessége nagyobb volt, mint a tömbi kokristályé [52]. Hasonlóképpen, a baikalein-nikotinamid nano-kokristályok fokozottabb oldódást mutattak a kokristályokhoz vagy a baikalein nanokristályokhoz képest [53]. A fenazopiridin-ftálimid nano-kokristály jelentősen megnövelte a fenazopiridin felszabadulási sebességét [18]. E stratégiák előnyeinek ismeretében, alkalmazásuk tovább javíthatja a fix dózisú kombinációkat, mivel korlátozott a megfelelő koformerek száma és tulajdonságainak javítási mértéke. Mindkét technológia alkalmazható a vízben rosszul oldódó hatóanyagok oldódási sebességének további növelésére abban az esetben, amikor egy stratégia nem nyújt megfelelő eredményt [54]. A gyártási kihívások leküzdése után a nano-kokristályok előállításának lehetősége magában foglalja a hosszantartó és lokalizált gyógyszeradagolást, amennyiben komplex gyógyszerhordozó-rendszerekbe építik azt [20]. Ennek a tanulmánynak a célja nanoméretű, több gyógyszerhatóanyagot tartalmazó kokristályok előállítása és jellemzése, továbbá a homogenizálás és a nagyteljesítményű ultrahang paraméterei hatásának vizsgálata a méreteloszlásra, a kristályosság fokára és az előállított polimorf kokristályokra. A technológiai paraméterek hatásának vizsgálatához különböző HPH nyomásokat és ciklusokat alkalmaztunk, valamint a nagy teljesítményű ultrahanggal végzett kokristályosítást különböző folyamatidőkkel és amplitúdókkal hajtottuk végre.

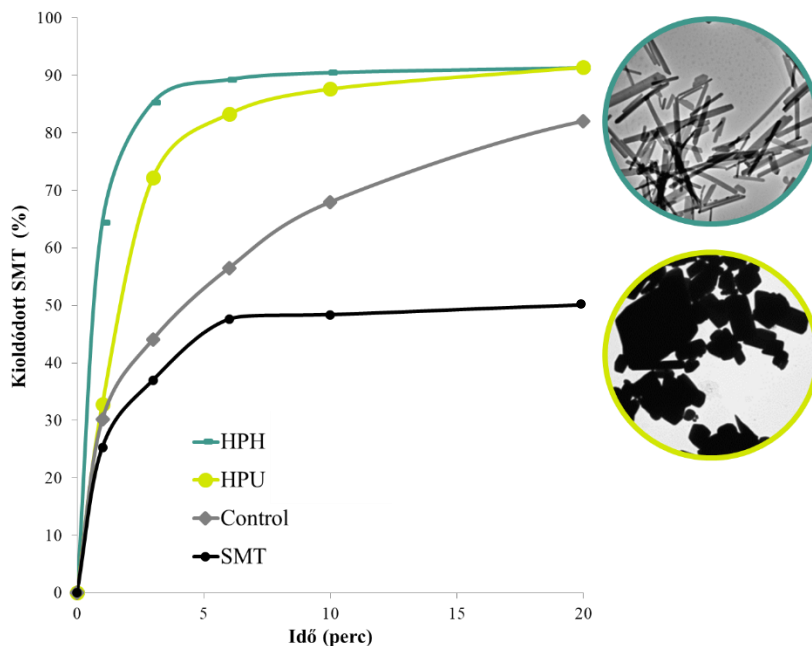
3.3.1. Módszerek

A 2 m/m% vizes szuszpenziót, amely 1:1 mólarányban tartalmaz 4-ASA-t és SMT-t, 0,4% polivinil-alkohollal, mint stabilizálószerrel készítettük. Ezután a szuszpenziót laboratóriumi méretű, nagy nyíróképességű diszpergáló emulgeáló berendezéssel 10 percig 17500 fordulat/perc sebességgel homogenizáltuk. Ezt követően a szobahőmérsékletű vizes szuszpenziót három különböző nyomás (300, 600 és 900 bar) és homogenizációs ciklusszám (c) (1, 3 és 5) alkalmazásával vezettük át a HPH-n. Ugyanezt a szuszpenziót alkalmaztuk a kokristályok nagy teljesítményű ultrahanggal történő előállítására, a fix 20 kHz frekvencia mellett az ultrahang amplitúdó 50, 70, és 90 %-ának 10 percig történő alkalmazásával, míg a 70 %-os amplitúdót további 20 és 30 percig használtuk. Az ultrahang pulzusok 5 másodpercesek voltak 1 másodperces elválasztási réssel. A további analízis előtt, a mindkét módszerből származó, szűrt mintákat szobahőmérsékleten száradni hagytuk, majd a további száradás érdekében exsikkátorba helyeztük őket. A nem-mikronizált kokristályok kontrollját az oldószer gyors bepárlásával állítottuk elő, oldószerként etanolt alkalmazva.

A mintákat transzmissziós elektronmikroszkóppal, por-röntgendiffrakcióval és differenciális pásztázó kalorimetriával jellemeztük. A minták a részecskeméret meghatározása dinamikus fényszórás és transzmissziós elektronmikroszkópia alkalmazásával történt. Végezetül az SMT feloldódását is megvizsgáltuk a különböző mintákban.

3.3.2. Eredmények és diszkusszió

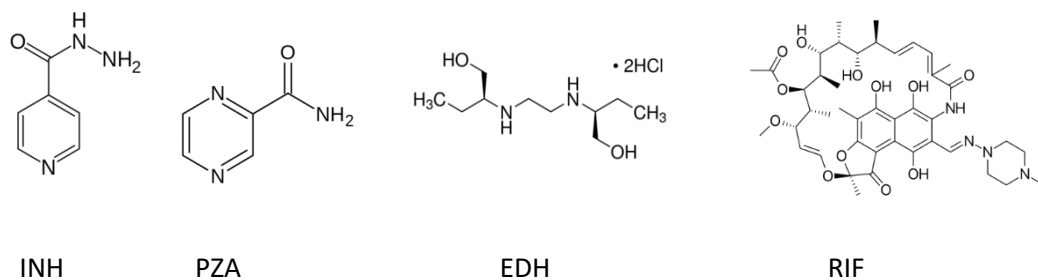
A nanoméretű 4-ASA-SMT kokristályokat HPH segítségével sikerült előállítani.. Másrésről a nagyteljesítményű ultrahangos módszer mikroméretű kokristályokat eredményezett. Ami a folyamat paramétereit illeti, 5 HPH ciklus 900 bar nyomáson legkisebb méretű, és szűk méreteloszlású kokristályokat eredményezett. A nagyteljesítményű ultrahang azonban széles részecskeméret-eloszlású kokristályokat eredményezett. A kokristály morfológiáját befolyásolta az előállítási módszer, hiszen a nagyteljesítményű ultrahanggal előállítottak különböző habitussal és morfológiával rendelkeztek, ellentétben a HPH alkalmazásával előállított kokristályok, melyek TEM-mel vizsgálva tú alakot mutattak. Mindkét módszerrel előállított kokristály stabil polimorf I, triklin kristályszerkezetű, P-1 tércsoportú. Ezenkívül a HPH által előállított nanoméretű kokristályok az SMT oldódási sebességét jelentősen javították a mikroméretű kokristályokhoz képest, különösen a tiszta hatóanyaghoz képest (**3. ábra**). A nano-kokristályok 6 hónapig stabilak maradtak a méreteloszlás változása nélkül.



3. ábra. A kokristályok TEM fényképei és az oldódási profilok

3.4. Tuberkulózis-elleni kokristályok

A tuberkulózis kezelése többféle gyógyszer hosszútávú alkalmazását teszi szükségessé. A szokásos terápia két hónapon át tartó izoniazid (INH), rifampicin (RIF), pirazinamid (PZA) és etambutol-dihidroklorid (EDH) (4. ábra) alkalmazásából áll, amelyet további négy hónapon keresztül tartó INH és RIF alkalmazása követ [37]. Habár a multirezisztens TB (MDR-TB) szabályozása sikertelen [38, 39] és a kezelési eredmények továbbra is gyengék [40], addig a kezelés nagyon keveset fejlődött [35]. Fix dózisú kombinációk ajánlottak a csupán egy hatóanyagot tartalmazó gyógyszerkészítmények helyett a beteg compliance, a terápia javítása és a MDR-TB megelőzése érdekében [55]. A tanulmány célja olyan tuberkulózis-elleni kokristályok formulálása, amelyek kiemelkedő gyógyszerészeti tulajdonságokkal rendelkeznek, minimalizálják a gyógyszerkölcsönhatásokat, és optimalizált FDC készítményeket képviselnek.



4. ábra. Elsővonalbeli tuberkulózis-elleni szerek
(INH) Izoniazid; **(PZA)** Pirazinamid; **(EDH)** Etambutol-dihidroklorid; **(RIF)** Rifampicin

3.4.1. Módszerek

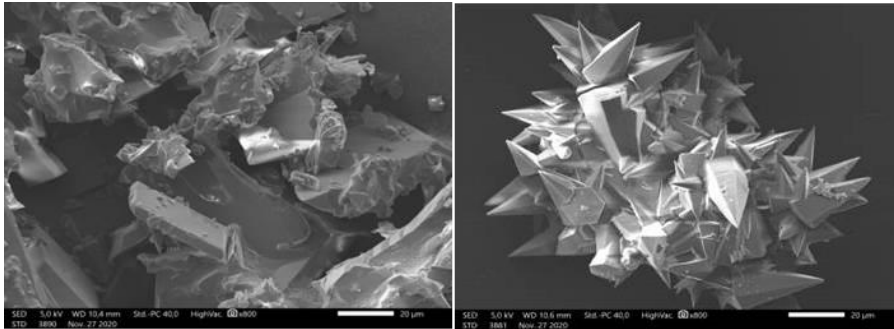
A HSP-eket kiszámoltuk a hatóanyagok potenciális kokristályképződésének szűrésére és a megfelelő oldószer kiválasztására. Az INH-PZA kokristályokat az oldószer gyors bepárlásával állítottuk elő, acetonban 90 fordulat/perc forgási sebességgel $45 \pm 1^\circ\text{C}$ -on. Az EDH-RIF kokristályok hasonlóképpen készültek acetonitrillel. Az összehasonlítás érdekében fizikai keveréket, FDC-t, és más mintákat is készítettünk.

A mintákat pásztázó elektronmikroszkóppal, por-röntgendiffrakcióval, differenciál pásztázó kalorimetriával, termogravimetriával, Fourier transzformációs infravörös spektroszkópiával és nagyteljesítményű folyadékkromatográfiával elemeztük, valamint rifampicin oldódási vizsgálatokat végeztünk és gyorsított stabilitási vizsgálatokat alkalmaztunk a kokristályok anti-TB FDC-re gyakorolt hatásának megállapítására.

3.4.2. Eredmények és diszkusszió

A tuberkulózis kezelése többféle gyógyszer hosszútávú alkalmazását teszi szükségessé. A szokásos terápia az INH, RIF, PZA és EDH alkalmazásából áll. Fix dózisú kombinációk ajánlottak az egy hatóanyagot tartalmazó gyógyszerkészítmények helyett a beteg compliance, a gyógyszeres terápia javítása és a MDR-TB megelőzése érdekében. Azonban a négy tuberkulózis-elleni hatóanyag fix dózisú kombinációja instabil és az INH bomlik. A kokristályok csökkentik a hatóanyagok higroszkópos jellegét. HSP-eket alkalmaztunk a hatóanyagok és az oldószer kiválasztásához. A gyógyszer-gyógyszer kokristályokban a hatóanyagokat úgy párosítottuk, hogy a kombináció (INH-PZA) megvédje az INH-t a bomlástól, valamint az EDH RIF-fel való kokristályosítása csökkentse az EDH higroszkóposágát. **(5. ábra)**. Az INH-PZA és EDH-RIF kokristályokkal formulált FDC-k

kevesebb gyógyszerinterakcióval rendelkeznek, valamint optimalizált, megnövekedett stabilitású FDC-ket képviselnek az EDH higroszkóposságának csökkenése és a RIF által indukált INH bomlás csökkenéséből adódóan. Ezenkívül a kokristályokkal rendelkező FDC-k RIF-oldódási sebessége hasonló a klasszikus FDC oldódási sebességével.



5. ábra. A (a) INH-PZA és a (b) RIF-EDH kokristályok TEM fényképei

4. Konklúzió

Számos területen egyre nagyobb érdeklődést vált ki a gyógyszer kokristályok és a gyógyszer-gyógyszer kokristályok jelentősége. A több gyógyszerhatóanyagot tartalmazó kokristályokat alkalmazzák a hatóanyagok fizikai-kémiai tulajdonságainak javítására, valamint fix dózisú gyógyszerkombinációk formulálására. Nyilvánvaló, hogy a kollaborációkon alapuló multidiszciplináris kutatások elengedhetetlenek az új és klinikailag kiválógyógyszerkészítmények megtervezéséhez és kifejlesztéséhez, amelyek mugukban foglalják a kristály tervezést, a szűrési módszereket belértve a kokristály szerkezet és annak keletkezésének a előrejelzését, valamint gyárthatóság jellemzését. Nyilvánvaló, hogy további vizsgálatokra van szükség ezen a fejlődő területen, hogy előnyös gyógyszerterápiás tulajdonságokkal rendelkező gyógyszer-gyógyszer kokristályokat állíthassunk elő idő- és költséghatékony módszerekkel.

Az értekezésben bemutatott eredmények hozzájárulnak a racionális gyógyszerészes terápiában alkalmazható kokristályok előállításához. Munkám során validáltuk a HSP-t, mint hatékony eszközt a koformerek kiválasztására, alkalmaztuk az újonnan kapott határértékeket az oldószer kiválasztásában és a kokristály polimorfok szabályozásában, továbbá 4-ASA-SMT nanoméretű kokristályokat állítottunk elő és megvizsgáltuk a technológiai paraméterek hatását. Ismertettük a nanoméretű kristályok tulajdonságait méret, morfológia, polimorfia és oldódás szempontjából. Végezetül az előzetes vizsgálatokból származó eredményeket felhasználtuk két új, a tuberkulózis kezelésben különösen hasznos kokristály előállításának

szabályozására, amelyek vizsgálatai során az INH-PZA és az EDH-RIF kokristályok által kínált gyógyszerterápiás előnyök kiemelkedőknek bizonyultak.

Források

- [1] M.Y. Gokhale, R.V. Mantri, Chapter 4 - API Solid-Form Screening and Selection, in: Y. Qiu, Y. Chen, G.G.Z. Zhang, L. Yu, R.V. Mantri (Eds.) *Developing Solid Oral Dosage Forms (Second Edition)*, Academic Press, Boston, 2017, pp. 85-112.
- [2] A.M. Healy, Z.A. Worku, D. Kumar, A.M. Madi, Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 117 (2017) 25-46.
- [3] M. Habgood, Sugden, I., Kazantsev, A., Adjiman, C. and Pantelides, C. , Efficient Handling of Molecular Flexibility in Ab Initio Generation of Crystal Structures, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11 (2015) 1957-1969.
- [4] V. Andre, O. Shemchuk, F. Grepioni, D. Braga, M.T. Duarte, Expanding the Pool of Multicomponent Crystal Forms of the Antibiotic 4-Aminosalicylic Acid: The Influence of Crystallization Conditions, *Crystal Growth & Design*, 17 (2017) 6417-6425.
- [5] I. Miroshnyk, S. Mirza, N. Sandler, Pharmaceutical co-crystals—an opportunity for drug product enhancement, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 6 (2009) 333-341.
- [6] S.S.A. Abidi, Y. Azim, S.N. Khan, A.U. Khan, Sulfaguanidine cocrystals: Synthesis, structural characterization and their antibacterial and hemolytic analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 149 (2018) 351-357.
- [7] F. Cao, G.L. Amidon, N. Rodríguez-Hornedo, G.E. Amidon, Mechanistic Basis of Cocrystal Dissolution Advantage, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107 (2018) 380-389.
- [8] M. Sangeetha, R. Mathammal, Structure-activity relationship of the ionic cocrystal: 5-amino-2-naphthalene sulfonate-ammonium ions for pharmaceutical applications, *Journal of Molecular Structure*, 1154 (2018) 327-337.
- [9] N. Schultheiss, A. Newman, Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties, *Crystal Growth & Design*, 9 (2009) 2950-2967.
- [10] R. Shaikh, R. Singh, G.M. Walker, D.M. Croker, Pharmaceutical Cocrystal Drug Products: An Outlook on Product Development, *Trends in Pharmacological Sciences*, 39 (2018) 1033-1048.
- [11] S.A. El-Gizawy, M.A. Osman, M.F. Arafa, G.M. El Maghraby, Aerosil as a novel co-crystal co-former for improving the dissolution rate of hydrochlorothiazide, *International Journal of Pharmaceutics*, 478 (2015) 773-778.
- [12] M.L. Cheney, D.R. Weyna, N. Shan, M. Hanna, L. Wojtas, M.J. Zaworotko, Coformer Selection in Pharmaceutical Cocrystal Development: a Case Study of a Meloxicam Aspirin Cocrystal That Exhibits Enhanced Solubility and Pharmacokinetics, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100 (2011) 2172-2181.
- [13] E.I. Korotkova, B. Kratochvíl, Pharmaceutical Cocrystals, *Procedia Chemistry*, 10 (2014) 473-476.
- [14] A.a.A. Cvetkovski, Bistra The role of cocrystallization screening for the assessment of structure-activity relationship in drug development, *Macedonian pharmaceutical bulletin*, (2016) 345-346.
- [15] S. Bordignon, P.C. Vioglio, E. Priola, D. Voinovich, R. Gobetto, Y. Nishiyama, M.R. Chierotti, Engineering Codrug Solid Forms: Mechanochemical Synthesis of an Indomethacin-Caffeine System, *Crystal Growth & Design*, 17 (2017) 5744-5752.
- [16] N. Duggirala, M. Perry, O. Almarsson, M. J Zaworotko, *Pharmaceutical Cocrystals: Along the Path to Improved Medicines*, 2015.
- [17] E. Merisko-Liversidge, G.G. Liversidge, E.R. Cooper, Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18 (2003) 113-120.
- [18] Y. Huang, J.-M. Li, Z.-H. Lai, J. Wu, T.-B. Lu, J.-M. Chen, Phenazopyridine-phthalimide nano-cocrystal: Release rate and oral bioavailability enhancement, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109 (2017) 581-586.
- [19] D. Spitzer, B. Risse, F. Schnell, V. Pichot, M. Klaumünzer, M.R. Schaefer, Continuous engineering of nano-cocrystals for medical and energetic applications, *Sci Rep*, 4 (2014) 6575-6575.
- [20] A. Sosnik, S. Mühlebach, Editorial: Drug Nanoparticles and Nano-Cocrystals: From Production and Characterization to Clinical Translation, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 131 (2018) 1-2.
- [21] R.J. Davey, *Polymorphism in Molecular Crystals* Joel Bernstein. Oxford University Press, New York, 2002. ISBN 0198506058, *Crystal Growth & Design*, 2 (2002) 675-676.
- [22] S.P. Miller, Raw, A. S. and Yu, L. X., *Scientific Considerations of Pharmaceutical Solid Polymorphism in Regulatory Applications*, 2006.
- [23] S. Aitipamula, P.S. Chow, R.B.H. Tan, Polymorphism in cocrystals: a review and assessment of its significance, *CrystEngComm*, 16 (2014) 3451-3465.

- [24] L.M. Padrela, B. Castro-Dominguez, A. Ziaee, B. Long, K.M. Ryan, G. Walker, E.J. O'Reilly, Co-crystal polymorphic control by nanodroplet and electrical confinement, *CrystEngComm*, 21 (2019) 2845-2848.
- [25] C.-H. Gu, V. Young, D.J.W. Grant, Polymorph screening: Influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorphic transformation, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90 (2001) 1878-1890.
- [26] M. Crowley, Zhang, F., Repka, M., Thumma, S., Upadhye, S., Kumar Battu, S., McGinity, J. and Martin, C. , *Pharmaceutical Applications of Hot-Melt Extrusion: Part I, Drug Development and Industrial Pharmacy*, 33 (2007) 909-926.
- [27] S. Aher, Dhupal, R., Mahadik, K., Paradkar, A. and York, P., Ultrasound assisted cocrystallization from solution (USSC) containing a non-congruently soluble cocrystal component pair: Caffeine/maleic acid, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41 (2010) 597-602.
- [28] C.M. Keck, R.H. Müller, Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 62 (2006) 3-16.
- [29] M. Rodrigues, B. Baptista, J.A. Lopes, M.C. Sarragaça, Pharmaceutical cocrystallization techniques. Advances and challenges, *International Journal of Pharmaceutics*, 547 (2018) 404-420.
- [30] N. Shan, F. Toda, W. Jones, Mechanochemistry and co-crystal formation: effect of solvent on reaction kinetics, *Chemical Communications*, (2002) 2372-2373.
- [31] Y. Marcus, The properties of organic liquids that are relevant to their use as solvating solvents, *Chemical Society Reviews*, 22 (1993) 409-416.
- [32] M.A. Mohammad, A. Alhalaweh, S.P. Velaga, Hansen solubility parameter as a tool to predict cocrystal formation, *International Journal of Pharmaceutics*, 407 (2011) 63-71.
- [33] D.J. Greenhalgh, A.C. Williams, P. Timmins, P. York, Solubility parameters as predictors of miscibility in solid dispersions, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 88 1182-1190.
- [34] C.V.S. Subrahmanyam, K.R. Prakash, P.G. Rao, Estimation of the solubility parameter of trimethoprim by current methods, *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 71 (1996) 175-183.
- [35] P.E. Farmer, Better and safer treatment for multidrug-resistant tuberculosis, *The Lancet*, 392 (2018) 798-800.
- [36] WHO, Global Tuberculosis Report, in, http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf?ua=1, 2015.
- [37] S.D. Lawn, A.I. Zumla, Tuberculosis, *The Lancet*, 378 (2011) 57-72.
- [38] WHO, Groups at risk: WHO report on the tuberculosis epidemic 1996, in, World Health Organization, Geneva, 1996.
- [39] R. Granich, Is the global tuberculosis control strategy too big to fail?, *The Lancet*, (2018).
- [40] N. Ahmad, S.D. Ahuja, O.W. Akkerman, J.-W.C. Alffenaar, L.F. Anderson, P. Baghaei, D. Bang, P.M. Barry, M.L. Bastos, D. Behera, A. Benedetti, G.P. Bisson, M.J. Boeree, M. Bonnet, S.K. Brode, J.C.M. Brust, Y. Cai, E. Caumes, J.P. Cegielski, R. Centis, P.-C. Chan, E.D. Chan, K.-C. Chang, M. Charles, A. Cirule, M.P. Dalcolmo, L. D'Ambrosio, G. de Vries, K. Dheda, A. Esmail, J. Flood, G.J. Fox, M. Fréchet-Jachym, G. Fregona, R. Gayoso, M. Gegia, M.T. Gler, S. Gu, L. Guglielmetti, T.H. Holtz, J. Hughes, P. Isaakidis, L. Jarlsberg, R.R. Kempker, S. Keshavjee, F.A. Khan, M. Kipiani, S.P. Koenig, W.-J. Koh, A. Kritski, L. Kuksa, C.L. Kvasnovsky, N. Kwak, Z. Lan, C. Lange, R. Laniado-Laborín, M. Lee, V. Leimane, C.-C. Leung, E.C.-C. Leung, P.Z. Li, P. Lowenthal, E.L. Maciel, S.M. Marks, S. Mase, L. Mbuagbaw, G.B. Migliori, V. Milanov, A.C. Miller, C.D. Mitnick, C. Modongo, E. Mohr, I. Monedero, P. Nahid, N. Ndjeka, M.R. O'Donnell, N. Padayatchi, D. Palmero, J.W. Pape, L.J. Podewils, I. Reynolds, V. Riekestina, J. Robert, M. Rodriguez, B. Seaworth, K.J. Seung, K. Schnippel, T.S. Shim, R. Singla, S.E. Smith, G. Sotgiu, G. Sukhbaatar, P. Tabarsi, S. Tiberi, A. Trajman, L. Trieu, Z.F. Udwadia, T.S. van der Werf, N. Veziris, P. Viikklepp, S.C. Vilbrun, K. Walsh, J. Westenhouse, W.-W. Yew, J.-J. Yim, N.M. Zetola, M. Zignol, D. Menzies, Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis, *The Lancet*, 392 (2018) 821-834.
- [41] A. Roy, M. Eisenhut, R.J. Harris, L.C. Rodrigues, S. Sridhar, S. Habermann, L. Snell, P. Mangtani, I. Adetifa, A. Lalvani, I. Abubakar, Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: systematic review and meta-analysis, *BMJ : British Medical Journal*, 349 (2014) g4643.
- [42] J.A. Seddon, A.C. Hesselting, B.J. Marais, H. McIlleron, C.A. Peloquin, P.R. Donald, H.S. Schaaf, Paediatric use of second-line anti-tuberculosis agents: A review, *Tuberculosis*, 92 (2012) 9-17.
- [43] M.A.M. Adam, H.M.H. Ali, E.A.G. Khalil, Initial second-line drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Sudanese retreatment-patients, *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*, 9 (2017) 21-23.
- [44] H. The Lancet Global, A new era for tuberculosis?, *The Lancet Global Health*, 6 (2018) e1045.
- [45] S. Battini, M.K.C. Mannava, A. Nangia, Improved Stability of Tuberculosis Drug Fixed-Dose Combination Using Isoniazid-Caffeic Acid and Vanillic Acid Cocrystal, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107 (2018) 1667-1679.

- [46] K.V. Drozd, A.N. Manin, A.V. Churakov, G.L. Perlovich, Drug-drug cocrystals of antituberculous 4-aminosalicylic acid: Screening, crystal structures, thermochemical and solubility studies, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99 (2017) 228-239.
- [47] L.F. Diniz, M.S. Souza, P.S. Carvalho, C.C.P. da Silva, R.F. D'Vries, J. Ellena, Novel Isoniazid cocrystals with aromatic carboxylic acids: Crystal engineering, spectroscopy and thermochemical investigations, *Journal of Molecular Structure*, 1153 (2018) 58-68.
- [48] C. Grossjohann, D.R. Serrano, K.J. Paluch, P. O'Connell, L. Vella-Zarb, P. Manesiotis, T. McCabe, L. Tajber, O.I. Corrigan, A.M. Healy, Polymorphism in Sulfadimidine/4-Aminosalicylic Acid Cocrystals: Solid-State Characterization and Physicochemical Properties, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104 (2015) 1385-1398.
- [49] P. Grobelny, A. Mukherjee, G.R. Desiraju, Drug-drug co-crystals: Temperature-dependent proton mobility in the molecular complex of isoniazid with 4-aminosalicylic acid, *CrystEngComm*, 13 (2011) 4358-4364.
- [50] P.P. Apshingekar, S. Aher, A.L. Kelly, E.C. Brown, A. Paradkar, Synthesis of Caffeine/Maleic Acid Co-crystal by Ultrasound-assisted Slurry Co-crystallization, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106 (2017) 66-70.
- [51] C. Karunatilaka, D.-K. Bučar, L.R. Ditzler, T. Friščić, D.C. Swenson, L.R. MacGillivray, A.V. Tivanski, Softening and Hardening of Macro- and Nano-Sized Organic Cocrystals in a Single-Crystal Transformation, *Angewandte Chemie International Edition*, 50 (2011) 8642-8646.
- [52] M. Karashima, K. Kimoto, K. Yamamoto, T. Kojima, Y. Ikeda, A novel solubilization technique for poorly soluble drugs through the integration of nanocrystal and cocrystal technologies, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 107 (2016) 142-150.
- [53] J. Pi, S. Wang, W. Li, D. Kebebe, Y. Zhang, B. Zhang, D. Qi, P. Guo, N. Li, Z. Liu, A nano-cocrystal strategy to improve the dissolution rate and oral bioavailability of baicalein, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14 (2019) 154-164.
- [54] L. Peltonen, Practical guidelines for the characterization and quality control of pure drug nanoparticles and nano-cocrystals in the pharmaceutical industry, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 131 (2018) 101-115.
- [55] B. Blomberg, S. Spinaci, B. Fourie, R. Laing, The rationale for recommending fixed-dose combination tablets for treatment of tuberculosis, *Bull World Health Organ*, 79 (2001) 61-68.

A disszertációhoz kapcsolódó publikációk és közlemények felsorolása

Tudományos közlemények

1. **Salem A**, Nagy S, Pál Sz, Széchenyi A. Reliability of the Hansen solubility parameters as co-crystal formation prediction tool. *International Journal of Pharmaceutics*, **558** (2019) 319-27 (IF: 4.845)
2. **Salem A**, Hagymási A, Vörös-Horváth B, Šafarik T, Balić T, Szabó T, Gósi F, Nagy S, Pál Sz, Kunsági-Máté S, Széchenyi A, Solvent dependent 4-aminosalicylic acid-sulfamethazine co-crystal polymorph control, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **156** (2021) 105599 (IF: 3.616)
3. **Salem A**, Takácsi-Nagy A, Nagy S, Hagymási A, Gósi F, Vörös-Horváth B, Balić T, Pál Sz, Széchenyi A, Synthesis and Characterization of Nano-Sized 4-Aminosalicylic Acid-Sulfamethazine Co-crystals, *Pharmaceutics*, **13** (2) (2021) 277 (IF: 4.421)

Szóbeli előadások

1. Multi-drug co-crystal polymorph control by solvent parameters, MedPECS 2019, Pécs-Hungary, 09/11/2019
2. Solvent dependent multi-drug co-crystal polymorph control, 8th BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, İzmir-Turkey, 14-16/10/2019

Poszterek

1. Nano-sized anti-tuberculosis multi-drug co-crystals, 6th Nano Today Conference, Lisbon-Portugal, 16-20/06/2019
2. Validation of the Hansen Solubility Parameters as Co-Crystal Formation Prediction Tool, 3rd International Symposium on Scientific and Regulatory Advances in Biological and Non – Biological Complex Drugs: A to Z in Bioequivalence, Budapest-Hungary, 12-14/11/2018

Díjak

1. JEOL image contest winner for the month of March; “Alien Crystals” SEM image of cocrystals of Ethambutol and Rifampicin, 3/2021
2. Second prize in the II Research Pitches Contest of the CGU; Crystals: the path towards better drugs, 6/2018