

# Nove farmaceutski prihvatljive soli 1-amino-3,5-dimetiladamantana i njihove kristalne forme

---

Tuksar, Mihaela

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:698103>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





University of Zagreb  
FACULTY OF SCIENCE

Mihaela Tuksar

**NOVEL PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE  
SALTS OF 1-AMINO-3,5-  
DIMETHYLADAMANTANE AND THEIR CRYSTAL  
FORMS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2019





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Mihaela Tuksar

**NOVE FARMACEUTSKI PRIHVATLJIVE SOLI 1-  
AMINO-3,5-DIMETILADAMANTANA I NJIHOVE  
KRISTALNE FORME**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Dr. sc. Ernest Meštrović, nasl. red. prof.

Dr. sc. Mirta Rubčić, izv. prof.

Zagreb, 2019.





University of Zagreb  
FACULTY OF SCIENCE

Mihaela Tuksar

**NOVEL PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE  
SALTS OF 1-AMINO-3,5-  
DIMETHYLADAMANTANE AND THEIR CRYSTAL  
FORMS**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:  
Dr. Ernest Meštrović, Adj. Full Prof.  
Dr. Mirta Rubčić, Assoc. Prof.

Zagreb, 2019



„Remember that hope is a good thing, Red,  
maybe the best of things, and no good thing ever dies.“

— *Stephen King u noveli Rita Hayworth i iskupljenje u  
Shawshanku iz knjige Godišnja Doba*

*Utrošila sam skoro trećinu svog života na izradu ovog rada. Mnogi su na različite načine sudjelovali u ovom pothvatu i zaslužuju da im barem zahvalim. Stoga, ako je dovoljno reći hvala...*

...PLIVI Hrvatska d.o.o., odjelu TAPI Kemija na povjerenju i pruženoj mogućnosti za izradu doktorskog rada.

...mojim mentorima prof. dr. sc. Mirti Rubčić i prof. dr. sc. Ernestu Meštroviću prije svega na prijateljskom odnosu pa zatim na uloženom trudu, strpljenju i velikoj pomoći u izradi i pisanju disertacije.

...kolegama, suradnicima i prijateljima u PLIVI koji su na bilo koji način doprinijeli izradi ovog rada.

...mojim prijateljima i „psiholozima“ Mijoni, Saneli, Jeleni, Marini, Ani, Matei, Katarini i mnogim drugima koje nisam uspjela spomenuti, što mi ne prestaju davati pozitivnu energiju i motivaciju te što ih imam uz sebe kad god mi zatreba podrška.

...mojoj obitelji na nesebičnoj žrtvi što su mi osigurali obrazovanje.

...zapravo bih trebala reći beskrajno hvala, Vladi na bezgraničnom razumijevanju, potpori i ljubavi na ovom mukotrpnom putu.

*HVALA!*

*Mihaela Tuksar*

„Waitin' on a sunny day“

— *Bruce Springsteen*





„If you can't fly, then run,  
if you can't run then walk,  
if you can't walk, then crawl,  
but whatever you do,  
you have to keep moving forward.”

— *Martin Luther King Jr.*

„I hated every minute of training, but I said:  
„Don't quit.  
Suffer now and live the rest of your life as a champion.””

— *Muhammad Ali*



## Sadržaj

<b>SAŽETAK</b> .....	<b>XV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XVIII</b>
<b>§ 1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. Farmaceutski aktivni spojevi i njihove farmaceutski prihvatljive soli</b> .....	<b>3</b>
2.1.1. <i>Važnost farmaceutski prihvatljivih soli</i> .....	9
<b>2.2. Osnovni principi pripreme soli</b> .....	<b>12</b>
2.2.1. <i>Topljivost</i> .....	15
2.2.2. <i>Higroskopnost</i> .....	18
<b>2.3. Strategija odabira i pripreme farmaceutski prihvatljive soli</b> .....	<b>19</b>
2.3.1. <i>Polimorfija farmaceutskih spojeva</i> .....	23
2.3.2. <i>Metode karakterizacije farmaceutskih pripravaka u čvrstom stanju</i> .....	28
2.3.3. <i>Optimiranje postupka kristalizacije s ciljem pripreme produkta na velikoj skali željenih svojstava u čvrstom stanju</i> .....	30
<b>2.4. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamin (MMN) i njegovi spojevi</b> .....	<b>33</b>
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>43</b>
<b>3.1. Polazni materijali</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2. Opis postupka pripreme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (MMN)</b> .....	<b>46</b>
3.2.1. <i>Dobivanje 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (memantina) neutralizacijom iz 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog klorida (MMN HCl)</i> .....	46
<b>3.3. Opis postupka pripreme kristalnih formi memantina</b> .....	<b>46</b>
3.3.1. <i>Priprava 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata (MMN HSUL)</i> .....	47
3.3.2. <i>Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog sulfata (MMN SUL)</i> .....	48
3.3.3. <i>Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog dihidrogenfosfata (MMN DHP)</i> .....	48
3.3.4. <i>Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog mesilata (MMN MES)</i> .....	49
3.3.5. <i>Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogenmaleata (MMN HMAL)</i> .....	51
3.3.6. <i>Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog maleata (MMN MAL)</i> .....	52
3.3.7. <i>Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata (MMN FUM)</i> .....	52
<b>3.4. Kristalizacijski pokusi s pripremljenim solima 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (MMN)</b> ..	<b>53</b>
3.4.1. <i>Kristalizacije iz dvokomponentnih sustava tvar/otapalo</i> .....	53
3.4.2. <i>Kristalizacije iz trokomponentnih sustava tvar/otapalo/antiotapalo</i> .....	54

3.4.3. Pretvorbe među fazama .....	55
<b>3.5. Određivanje topljivosti odabranih soli 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (MMN) .....</b>	<b>55</b>
<b>3.6. Razvoj i optimiranje postupka pripreme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata forme 1 (MMN HSUL forme 1).....</b>	<b>56</b>
3.6.1. Odabir otapala .....	56
3.6.2. Odabir količine te uvjeta pri kojima se dodaje 96 % sumporna kiselina .....	57
3.6.3. Utjecaj atmosfere u kojoj se provodi sinteza .....	57
3.6.4. Temperatura pri kojoj se vrši izolacija produkta .....	57
3.6.5. Stabilnost n-heptanske otopine memantina .....	58
3.6.6. Trajanje miješanja pri temperaturi izolacije .....	58
<b>3.7. Priprava 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata forme 1 (MMN HSUL forme 1) u uvećanom mjerilu .....</b>	<b>58</b>
<b>3.8. Instrumentne metode analize .....</b>	<b>59</b>
3.8.1. Difrakcijske metode strukturne analize .....	59
3.8.2. Metode termičke analize .....	59
3.8.3. Mikroskopija .....	60
3.8.4. Ostale metode .....	60
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>62</b>
<b>4.1. Priprava soli 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (memantina, MMN) .....</b>	<b>62</b>
<b>4.2. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogensulfat (MMN HSUL) i 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev sulfat (MMN SUL) .....</b>	<b>63</b>
<b>4.3. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev dihidrogenfosfat (MMN DHP) .....</b>	<b>73</b>
<b>4.4. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev mesilat (MMN MES) .....</b>	<b>79</b>
<b>4.5. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogenmaleat (MMN HMAL).....</b>	<b>88</b>
<b>4.6. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev maleat (MMN MAL) .....</b>	<b>94</b>
<b>4.7. Kokristal 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata i fumarne kiseline (MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM) .....</b>	<b>99</b>
<b>4.8. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev fumarat (MMN FUM).....</b>	<b>103</b>
<b>4.9. Topljivosti pripremljenih kristalnih formi soli memantina .....</b>	<b>106</b>
<b>4.10. Higroskopnosti pripremljenih kristalnih formi soli memantina .....</b>	<b>108</b>
<b>4.11. Usporedba svojstava pripremljenih kristalnih formi soli memantina i odabir najpogodnije alternativne soli memantina .....</b>	<b>108</b>
<b>4.12. Razvoj i optimiranje postupka pripreme MMN HSUL forme 1 .....</b>	<b>109</b>
4.12.1. Odabir otapala .....	109
4.12.2. Odabir količine te uvjeta pri kojima se dodaje 96 % sumporna kiselina.....	111
<b>4.13. MMN HSUL forma 1 pripravljena u uvećanom mjerilu .....</b>	<b>115</b>
<b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>117</b>

---

§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ.....	119
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	121
§ 8. DODATAK .....	XXI
§ 9. ŽIVOTOPIS .....	LXXVI





Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Doktorska disertacija

## SAŽETAK

### NOVE FARMACEUTSKI PRIHVATLJIVE SOLI 1-AMINO-3,5-DIMETILADAMANTANA I NJIHOVE KRISTALNE FORME

Mihaela Tuksar

PLIVA Hrvatska d.o.o., TAPI Istraživanje i razvoj, Prilaz baruna Filipovića 29, 10000 Zagreb, Hrvatska i Zavod za opću i anorgansku kemiju, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb, Hrvatska

U okviru ovog rada pripravljeno je sedam novih soli 1-amino-3,5-dimetiladamantana (memantina) s farmaceutski prihvatljivim kiselinama: sumpornom, fosfornom, metansulfonskom, maleinskom i fumarnom kiselinom. Različitim metodama kristalizacije iz otopine kao što su isparavanje, izlaganje definiranim uvjetima vlage i parama otapala, suspendiranje u otapalu te dehidracija/desolvacija grijanjem, priređeno je ukupno šesnaest kristalnih formi soli navedenih soli memantina. Pripremljene kristalne forme okarakterizirane su prikladnim metodama analize u čvrstom stanju koje su uključivale metode termičke i spektroskopske analize te difrakcijske i mikroskopske metode. Za četrnaest kristalnih formi pripremljenih soli memantina difrakcijom rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu određene su molekulske i kristalne strukture.

Usporedbom ciljanih svojstava pripremljenih soli memantina, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogensulfat forma 1 odabrana je kao najbolja alternativna sol 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevom kloridu, soli prisutne u lijeku na tržištu. Postupak dobivanja i kristalizacije 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata forme 1 je razvijen i optimiran. Konačno, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogensulfat forma 1 pripravljena je u uvećanom mjerilu od 1000 L.

(LXXVIII + 128 stranica, 116 slika, 57 tablica, 144 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: 3,5-dimetiladamantan-1-ilamin/ farmaceutski prihvatljive soli/ kristalizacija/ odabir soli/ polimorfija/ uvećanje procesa

Mentori: dr. sc. Ernest Meštrović, zn. savj., Xellia d.o.o., Zagreb i nasl. red. prof., PMF, Zagreb te dr. sc. Mirta Rubčić, izv. prof., PMF, Zagreb



Rad prihvaćen: 11. rujan 2019.

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Dubravka Matković-Čalogović, PMF, Zagreb
2. izv. prof. dr. sc. Mirta Rubčić, PMF, Zagreb
3. dr. sc. Krunoslav Užarević, v. zn. sur., IRB, Zagreb





University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Doctoral Thesis

## ABSTRACT

### NOVEL PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE SALTS OF 1-AMINO-3,5-DIMETHYLADAMANTANE AND THEIR CRYSTAL FORMS

Mihaela Tuksar

PLIVA Croatia Ltd., TAPI Research and Development, Prilaz baruna Filipovića 29, 10000 Zagreb, Croatia and Division of General and Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia

Within this work, seven novel salts of 1-amino-3,5-dimethyladamantane (memantine) with pharmaceutically acceptable acids: sulphuric, phosphoric, methanesulfonic, maleic and fumaric acid were prepared. Using various methods of crystallization in solution such as evaporation, sauna and slurry experiments as well as dehydration/desolvation by heating, sixteen crystals forms of the mentioned memantine salts were prepared. The obtained crystalline forms were characterized by suitable solid-state methods, which included thermal and spectroscopic analysis as well as diffraction and microscopic methods. Single crystals of the fourteen crystal forms were prepared, and their crystal and molecular structures were determined by X-ray diffraction.

By comparing the target properties of the prepared memantine salts, 3,5-dimethyladamantane-1-ylammonium hydrogensulfate form 1 was selected as the best alternative salt of the 3,5-dimethyladamantane-1-ylammonium chloride, the salt present in the drug on the market. The process of preparation and crystallization of 3,5-dimethyladamantane-1-ylammonium hydrogensulfate form 1 was developed and optimized. Eventually, 3,5-dimethyladamantane-1-ylammonium hydrogensulfate form 1 was prepared on a larger scale, in 1000 L batch.

(LXXVIII + 128 pages, 116 figures, 57 tables, 144 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: 3,5-dimethyladamantane-1-ylamine/ pharmaceutically acceptable salts/ crystallization/ salt selection/ polymorphism/ process scale up

Supervisors: Dr. Ernest Meštrović, Scientific Advisor, Xellia Ltd., Zagreb and Adj. Full Prof., Faculty of Science, Zagreb and Dr. Mirta Rubčić, Assoc. Prof., Faculty of Science, Zagreb

Thesis accepted: 11 September 2019

Reviewers:

1. Dr. Dubravka Matković-Čalogović, Full Prof., Faculty of Science, Zagreb
2. Dr. Mirta Rubčić, Assoc. Prof., Faculty of Science, Zagreb
3. Dr. Krunoslav Užarević, Senior Research Associate, IRB, Zagreb



## § 1. UVOD

Alzheimerova bolest (AB) je progresivni i degenerativni poremećaj mozga te najčešći oblik demencije koji polako uništava pamćenje, vještine razmišljanja i rasuđivanja.<sup>1,2</sup> Smatra se vodećom bolesti današnjice, u stalnom je porastu i predstavlja ozbiljan globalni javnozdravstveni problem. Procjenjuje se da je 2018. godine živjelo 50 milijuna ljudi u svijetu s AB te da će se taj broj utrostručiti na 152 milijuna ljudi do 2050. godine.<sup>3,4</sup> Iako ne postoji lijek koji bi poništio učinke AB, moguće je ublažiti simptome i usporiti napredovanje bolesti. U zadnjih 20 godina bilo je više od 100 pokušaja da se razvije djelotvoran lijek za liječenje AB, no odobrena su samo četiri lijeka: donepezil, rivastigmin i galantamin kao inhibitori acetilkolinsteraze te memantin (MMN), antagonist glutamata, koji je iza donepezila drugi najkorišteniji antidementiv.<sup>3</sup>

3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev klorid (MMN HCl) je aktivna farmaceutska tvar odobrena za liječenje umjerene do teške AB, 2002. godine od Europske agencije za lijekove, 2003. godine od Američke agencije za lijekove i hranu te 2011. godine od japanskog Ministarstva zdravstva, rada i socijalne skrbi.<sup>5-7</sup>

U čvrstim dozirnim oblicima (tabletama i kapsulama s produženim djelovanjem) MMN HCl se nalazi u svom nesolvatiranom obliku.<sup>8,9</sup> MMN HCl kristalizira u obliku bezbojnih igličastih kristala koji posjeduju loša svojstva tečljivosti (sposobnost kristala da teku na željeni način u određenom dijelu opreme) i kompresibilnosti (sposobnost kristala da se smanjuju u volumenu kada su pod pritiskom) te mogu negativno utjecati na učinkovitost pripreme tableta.<sup>8-12</sup>

Cilj ovog rada bio je priprema niza novih farmaceutski prihvatljivih soli memantina kao i pretraga njihovih kristalnih oblika. Usporedbom svojstava priređenih formi željela se pronaći alternativna sol memantina boljih karakteristika u odnosu na sol trenutno prisutnu na tržištu, memantin hidroklorid, te ju pripremiti u industrijskom mjerilu zadovoljavajući postavljene kriterije kvalitete.

Odabir najpogodnije soli kao i njezine čvrste forme predstavlja prvi i jedan od najvažnijih koraka na uspješnom putu razvoja i proizvodnje lijeka.<sup>13-17</sup> Poznato je da svojstva čvrste djelatne tvari značajno utječu na kvalitetu i na konačni oblik lijeka, pogotovo kada je riječ o čvrstim dozirnim oblicima.<sup>18</sup> S obzirom da svaka sol i njezina pojedina čvrsta forma imaju

jedinstvena svojstva, odabir najpogodnije čvrste forme neke soli je složen proces koji zahtjeva sustavno istraživanje, pri čemu je potrebno uzeti u obzir i pogodnosti ciljane čvrste forme s procesnog i ekonomskog stajališta.

Osim pripreve djelatne tvari čija bi svojstva bila bolja od one koja se trenutno koristi u pripravcima na tržištu, svrha pripreve novih soli i njihovih kristalnih formi jest otvaranje alternativnih puteva za drukčijim dozirnim oblicima koji bi značajno olakšali život oboljelima od ove opake bolesti. Naime, trenutno dostupni dozirni oblici koji su prisutni na tržištu primjenjuju se jednom ili dva puta na dan što osobama oboljelima od AB koje pate od poremećaja u pamćenju i teško obavljaju najjednostavnije svakodnevne poslove predstavlja zahtjevan zadatak.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

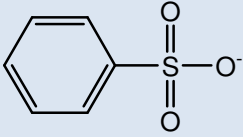
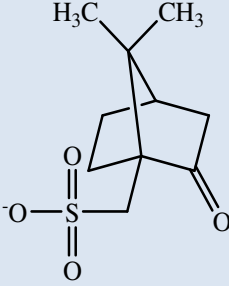
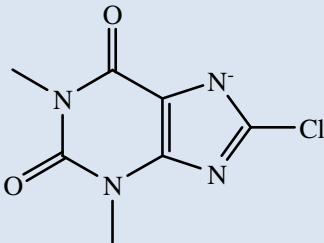
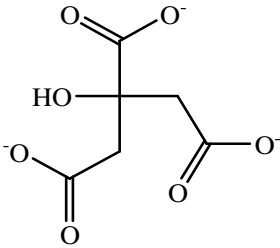
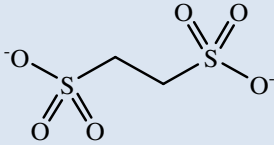
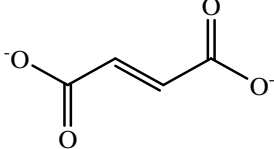
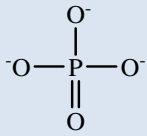
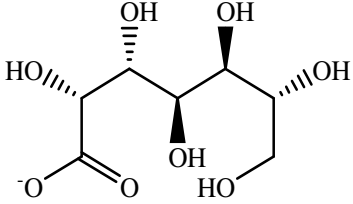
### 2.1. Farmaceutski aktivni spojevi i njihove farmaceutski prihvatljive soli

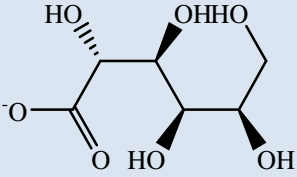
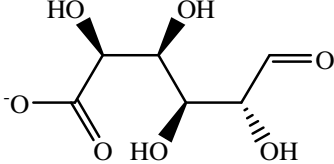
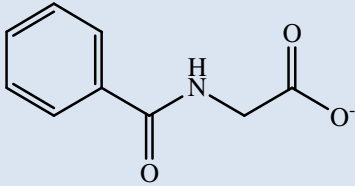
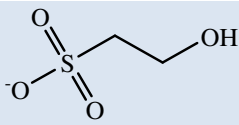
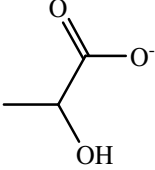
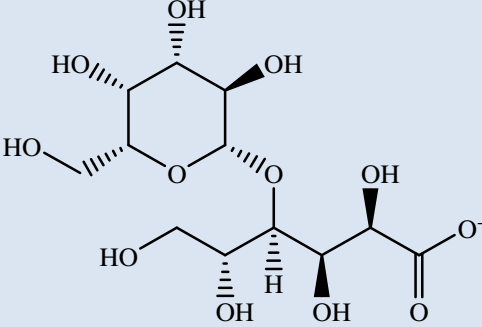
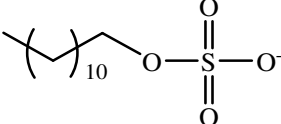
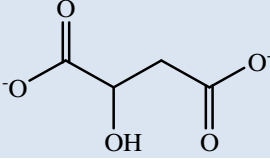
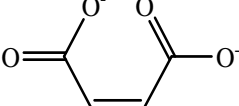
Prema Američkoj agenciji za lijekove i hranu (US FDA, eng. *United States Food and drug administration*), farmaceutski aktivni spoj (ljekovita ili djelatna tvar) je bilo koja tvar ili mješavina tvari namijenjenih za uporabu u proizvodnji lijeka (medicinskog proizvoda) i koja kada se koristi u proizvodnji lijeka, postaje aktivni sastojak lijeka.<sup>19</sup> Takve tvari namijenjene su za pružanje farmakološke aktivnosti ili nekog drugog izravnog učinka u dijagnostici, ublažavanju, liječenju ili prevenciji bolesti ili na utjecaj na strukturu ili funkciju tijela.<sup>19</sup> S obzirom da se većina farmaceutskih proizvoda primjenjuje u čvrstom obliku (kao tablete ili kapsule) ili se u nekom dijelu proizvodnog postupka rabe kao krutine, važno je poznavati njihova fizikalno-kemijska svojstva.<sup>16,17</sup> Većina farmaceutski aktivnih spojeva su organske molekule od kojih mnoge posjeduju funkcijske skupine koje se mogu (de)protonirati te tvoriti odgovarajuće anione odnosno katione.<sup>20,21</sup> Od aktivnih farmaceutskih spojeva velik broj je moguće prevesti u odgovarajuće soli. Stoga i ne čudi procjena da se čak polovica farmaceutskih proizvoda primjenjuje u obliku soli.<sup>20</sup> Ioni prisutni u farmaceutskim proizvodima moraju biti toksikološki prihvatljivi, odnosno neškodljivi, a njihove se soli onda definiraju kao farmaceutski prihvatljive.<sup>21</sup> Ovdje svakako valja spomenuti tzv. GRAS listu (eng. *generally recognized as safe*) koja nudi listu prihvatljivih iona.<sup>22,23</sup> Prema podacima iz 2007. godine, 38 različitih aniona i 15 različitih kationa navedenih u tablici 1, odobreni su od Američke agencije za lijekove i hranu kao toksikološki prihvatljivi (razlika u sastavu se ne navodi kao posebni anioni tj. kationi, poput na primjer fosfat, hidrogenfosfat i dihidrogenfosfat).<sup>24</sup>

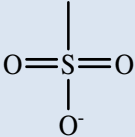
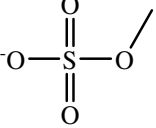
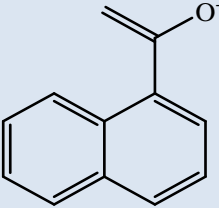
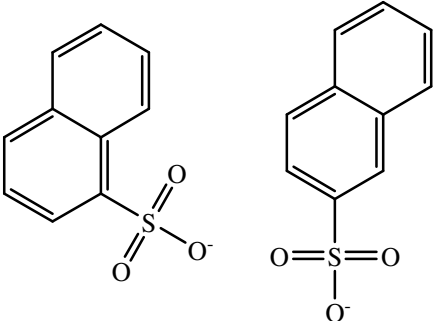
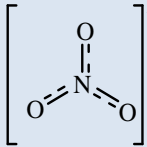
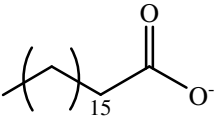
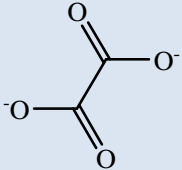
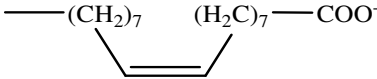
Tablica 1. Zastupljenost pojedinih iona korištenih u solima djelatnih tvari.<sup>24</sup>

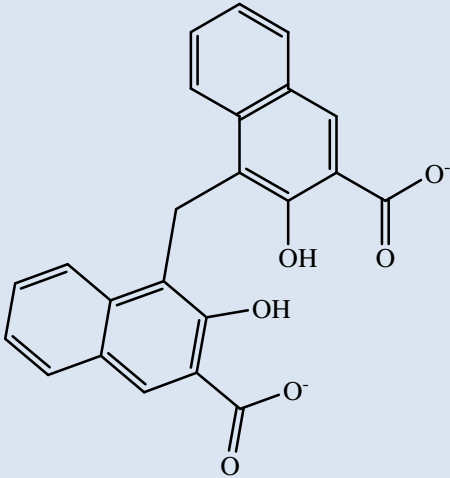
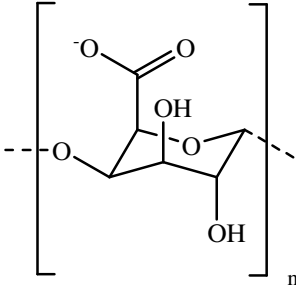
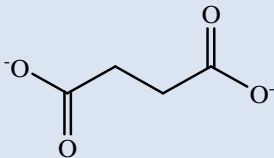
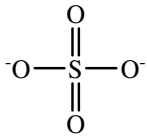
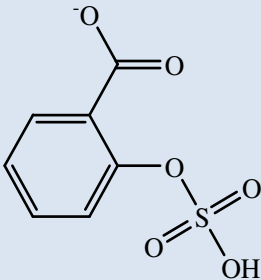
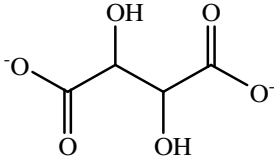
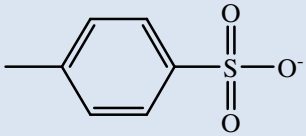
ANION	STRUKTURNA FORMULA	ZASTUPLJENOST
Acetat		3,3 %
Benzoat		0,2 %



Benzensulfonat (Besilat)		0,8 %
Bromid	Br <sup>-</sup>	4,6 %
Kamforsulfonat (Kamsilat)		0,2 %
Klorid	Cl <sup>-</sup>	53,4 %
Kloroteofilinat		0,2 %
Citrat		2,7 %
Etandisulfonat (Edisilat)		0,2 %
Fumarat		1,7 %
Fosfat		2,7 %
Gluceptat (Glukoheptonat)		0,2 %

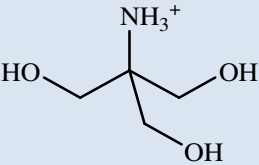
Glukonat		0,4 %
Glukuronat		0,2 %
Hipurat		0,2 %
Jodid	I <sup>-</sup>	1,0 %
Isetionat		0,4 %
Laktat		1,3 %
Laktobionat		0,2 %
Laurilsulfat		0,2 %
Malat		0,4 %
Maleat		4,2 %

Metansulfonat (Mesilat)		4,2 %
Metilsulfat		0,4 %
Naftoat		0,2 %
Naftalensulfonat (Napsilat)		0,4 %
Nitrat		1,7 %
Oktadekanoat		0,2 %
Oksalat		0,2 %
Oleat		0,2 %

Pamoat (Embonat)		0,8 %
Poligalakturonat		0,2 %
Sukcinat		1,2 %
Sulfat		0,2 %
Sulfosalicilat		0,2 %
Tartarat		3,8 %
<i>p</i> -toluensulfonat (Tosilat)		0,4 %

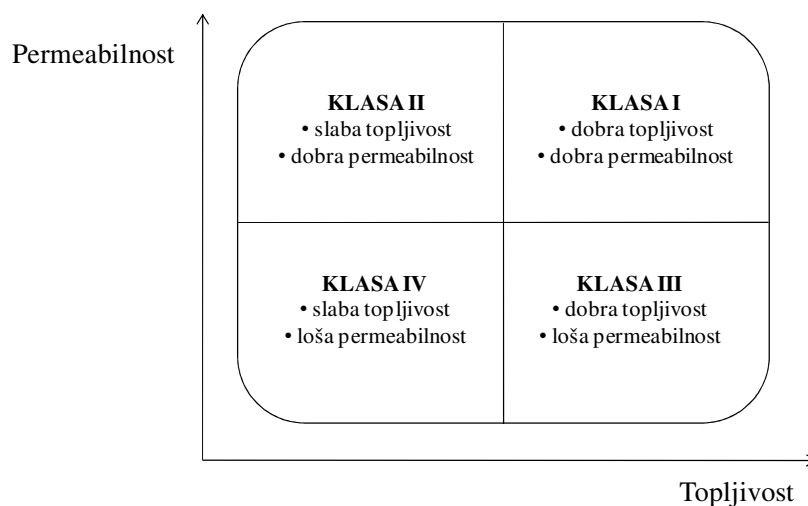
Trifluoroacetat		0,2 %
-----------------	--	-------

KATION	STRUKTURNA FORMULA	ZASTUPLJENOST
Benzatin		0,6 %
Cink	Zn <sup>2+</sup>	1,2 %
Dietanolamin		0,6 %
Dietilamin		0,6 %
Kalcij	Ca <sup>2+</sup>	6,9 %
Kalij	K <sup>+</sup>	6,3 %
Kolin		0,6 %
Lizin		0,6 %
Magnezij	Mg <sup>2+</sup>	1,2 %
Meglumin		2,9 %
Natrij	Na <sup>+</sup>	75,3 %
Piperazin		0,6 %
Prokain		0,6 %
Srebro	Ag <sup>+</sup>	0,6 %

Trometamin		1,7 %
------------	---	-------

### 2.1.1. Važnost farmaceutski prihvatljivih soli

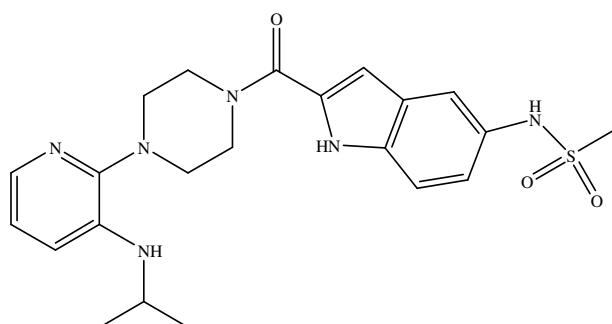
Kada neka tvar posjeduje loša fizikalno-kemijska svojstva, što otežava njeno istraživanje i željenu primjenu, prevođenje u odgovarajuću sol predstavlja jedan od mogućih načina „poboljšanja“ kritičnih svojstva.<sup>20,25-27</sup> Takav pristup modifikaciji ciljanih svojstava moguć je kada osnovni spoj sadrži funkcijske skupine koje se mogu protonirati, odnosno deprotonirati. Primjerice, prevođenjem neke tvari u odgovarajuću sol može se znatno povećati njena topljivost u vodi, što je od izuzetne važnosti u istraživanjima bioloških sustava te istraživačkim područjima poput kemije okoliša kao i u istraživanjima koja se provode u poljoprivrednoj, prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.<sup>19,25,28,29</sup> Otprilike 40 % djelatnih tvari koje se nalaze na tržištu, te oko 70 – 90 % djelatnih tvari koje se nalaze u raznim fazama istraživanja prema biofarmaceutskoj klasifikaciji lijekova<sup>30</sup> (BCS, eng. *Biopharmaceutics classification system*) pripada skupinama II i IV, imaju slabu topljivost u vodi (slika 1).<sup>31</sup>



Slika 1. Biofarmaceutska klasifikacija lijekova.<sup>31</sup>

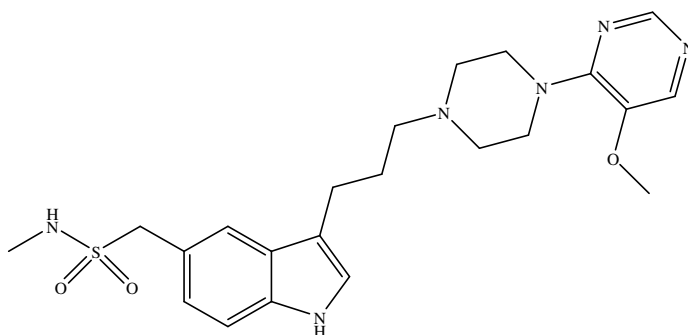
Veća topljivost i brzina otapanja tj. bolja bioraspoloživost najčešći su razlozi zašto se odlučuje na pripravu soli djelatne tvari.<sup>27</sup> Jedan od ekstremnijih primjera za to je *N*-(2-(4-(3-(isopropilamino)piridin-2-il)piperazin-1-karbonil)-1H-indol-5-il)metansulfonamid mesilat

(delaviridin mesilat, slika 2) čija je topljivost u vodi pri pH = 6 više od 2000 puta veća od topljivosti „slobodne“ baze.<sup>32</sup>



Slika 2. Strukturna formula *N*-(2-(4-(3-(isopropilamino)piridin-2-il)piperazin-1-karbonil)-1*H*-indol-5-il)metansulfonamida (delaviridin).

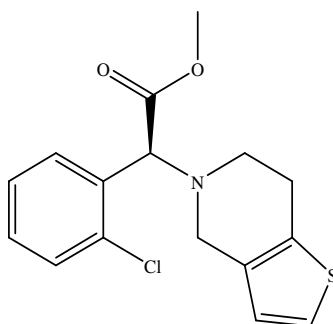
Zanimljive razlike u topljivosti postoje i među solima koje su pripravljene od istog spoja. Tako su topljivosti mesilatne, hidrogentartaratne, laktatne i hidrogensukcinatne soli (3-(3-(4-(5-metoksiprimidin-4-il)piperazin-1-il)propil)-1*H*-indol-5-il)-*N*-metilmetansulfonamida (avitriptan, slika 3) u vodi, međusobno usporedive i tri puta veće od topljivosti kloridne soli avitriptana.<sup>27</sup>



Slika 3. Strukturna formula (3-(3-(4-(5-metoksipirimidin-4-il)piperazin-1-il)propil)-1*H*-indol-5-il)-*N*-metilmetansulfonamida (avitriptan).

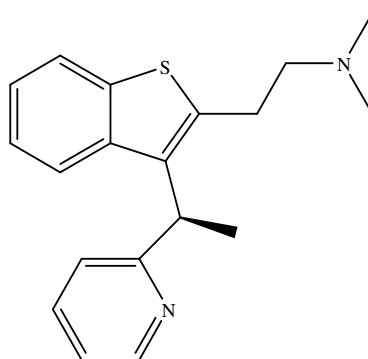
Neki organski spojevi postoje u uljastom obliku, teško ih je kristalizirati i sklони su oksidaciji dok su odgovarajuće soli često kristalne, stabilnije te pogodnije za izolaciju i čišćenje u odnosu na njezinu konjugiranu bazu ili kiselinu. Tako je na primjeru (*S*)-metil-2-(2-klorofenil)-2-(6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-5(4*H*)-il)acetata (klopidogrel, slika 4) poznato da je „slobodna“ baza iz koje se priređuje sol uljasta tvar, velike viskoznosti i relativno nestabilna pri povišenoj vlažnosti i temperaturi. Soli klopidogrela poput hidrogensulfata

(farmaceutski preferirana sol), klorida, bromida, besilata, mesilata i kamforsulfonata su pak stabilnije krutine i jednostavnije za pročišćavanje kristalizacijom.<sup>33</sup>



Slika 4. Strukturna formula (*S*)-metil 2-(2-klorofenil)-2-(6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-5(4*H*)-il)acetata (klopidogrel).

Priprava soli može utjecati na svojstva poput kemijske (termičke, hidrolitičke, fotokemijske) stabilnosti, permeabilnosti, higroskopnosti, poboljšanje organoleptičnih svojstava (okusa), kompaktibilnosti i slično. Dodatno, razlike u talištima i veličini čestica među pojedinim solima, ali i u odnosu na polaznu tvar iz koje su izvedene, otvaraju nove mogućnosti za drukčije formulacije. Za djelatnu tvar (*R*)-*N,N*-dimetil-2-(3-(1-(piridin-2-il)etil)benzo[*b*]tiofen-2-il)etanamin (NBI-75043, slika 5), potencijalne molekule za liječenje nesаницe, navodi se da je „slobodna“ baza kristalna tvar s talištem od svega 64 °C.<sup>34</sup>



Slika 5. Strukturna formula (*R*)-*N,N*-dimetil-2-(3-(1-(piridin-2-il)etil)benzo[*b*]tiofen-2-il)etanamin (NBI-75043).

Primarni zahtjevi su bili razviti nehigroskopnu nesolvatiranu sol tališta većeg od 125 °C da se izbjegnu nekompatibilnosti s mehaničkim silama tijekom proizvodnje lijeka. U tu svrhu napravljeno je pretraživanje soli s 14 različitih kiselina, a konačni odabir bila je sol NBI-75043 s benzensulfonskom kiselinom tališta 168 °C. U tablici 2 prikazana su fizikalno-kemijska svojstva soli NBI-75043 izvedenih iz različitih kiselina.



Tablica 2. Usporedba fizikalno-kemijskih svojstava soli NBI-75043.<sup>34</sup>

NBI-750413 SOL izvedena iz	benzensulfonske kiseline			fumarne kiseline	maleinske kiseline	<i>p</i> -toluensulfonske kiseline	bromovodične kiseline
otapalo za pripremu	ACN	aceton	EtOAc	2-PrOH	EtOAc	EtOAc	EtOAc
talište	168,1 °C	167,5 °C	165,3 °C	167,0 °C	133,1 °C	142,4 °C	151,0 °C
ostatna otapala	836 ppm	191 ppm	635 ppm	2370 ppm	3350 ppm	453 ppm	325 ppm
ICH limit ostatnih otapala / ppm	420	5000	5000	5000	5000	5000	5000
udio vode	0,09 %	0,09 %	0,07 %	0,25 %	0,05 %	0,14 %	0,10 %
unos vlage na 90 % RV	< 0,1 %	< 0,1 %	0,1 %	≤ 1 %	≤ 2,5 %	≤ 12 %	≤ 5 %
čvrste forme	kristalna forma 1	kristalna forma 1	kristalna forma 1	jedna poznata forma	jedna poznata forma	smjesa formi ?	kristalna
morfologija	iglice	iglice	iglice	pločice	pločice	iglice / pločice	pločice
iskorištenje pripreve	79 %	61 %	84 %	69 %	19 %	74 %	50 %

ICH – eng. *International Council for Harmonization*, Međunarodno vijeće za usklađivanje tehničkih zahtjeva za lijekove za ljudsku upotrebu

RV – relativna vlažnost

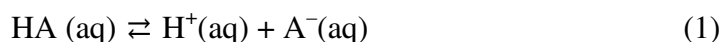
Zbog razlike fizikalno-kemijskih svojstava kiseline ili baze i njihovih soli dolazi do razlike u različitim svojstvima koja su bitna za formulaciju te se na taj način ostvaruju prednosti pripreve soli sa željenim svojstvima.

Uz mnogobrojne prednosti pripreve soli, postoje i određeni nedostaci. Najveći nedostaci su što se zbog neaktivnog iona (najčešće 20 – 50 %) smanjuje udio aktivne tvari čime se da bi se zadovoljila količina aktivne tvari, povećava ukupna doza što može izazvati poteškoće u formulaciji.<sup>16</sup> Prisutan je i ekonomski efekt većih troškova jer pripreva soli predstavlja dodatni korak u sintetskom putu. Uz navedeno, moguća je i veća sklonost stvaranju hidrata i polimorfa kao i potencijalna disproporcijacija soli.<sup>16</sup>

## 2.2. Osnovni principi pripreve soli

Kako je već bilo spomenuto veliki broj spojeva sadrži u svojoj strukturi funkcijske skupine koje se mogu (de)protonirati.<sup>20,21</sup> Oslanjajući se na Brønsted-Lowryevu definiciju, a zadržavajući se pri razmatranju na vodi kao otapalu, kiseline se definiraju kao tvari koje

otpuštaju proton, dok su baze tvari koje primaju proton.<sup>35,36</sup> Disocijacija kiseline općenitog naziva HA može se predočiti sljedećom jednadžbom:



Ravnotežna konstanta ionizacije te reakcije može se napisati kao:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (2)$$

pri čemu vrijedi da je:

$$\text{p}K_a = -\log K_a \quad (3)$$

Prilikom otapanja HA kiseline u vodi, ukupna koncentracija (A) ioniziranog ( $\text{A}^-$ ) i neioniziranog (HA) dijela u otopini ostaje nepromijenjena tj. zbroj ukupnih vrsta može se zapisati kao:

$$[\text{A}] = [\text{HA}] + [\text{A}^-] \quad (4)$$

Koristeći jednadžbu 4, jednadžba 2 može se zapisati kao:

$$K_a \cdot ([\text{A}] - [\text{A}^-]) = [\text{H}^+] \cdot [\text{A}^-] \quad (5)$$

Iz čega slijedi da je koncentracija ioniziranog dijela,  $[\text{A}^-]$

$$[\text{A}^-] = \frac{K_a \cdot [\text{A}]}{K_a + [\text{H}^+]} \quad (6)$$

to jest udio ionizirane vrste može se izraziti kao

$$\alpha_{\text{A}^-} = \frac{[\text{A}^-]}{[\text{A}]} = \frac{K_a}{[\text{H}^+] + K_a} \quad (7)$$

S obzirom da je masa očuvana, udio neionizirane vrste je:

$$\alpha_{\text{HA}} = 1 - \alpha_{\text{A}^-} = \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}]} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_a} \quad (8)$$

Ukoliko se koristi logaritamski izraz gdje je izraz  $[\text{H}^+]$  zamijenjen izrazom o pH

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+] \quad (9)$$

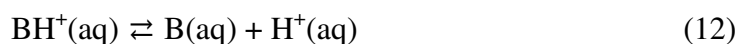
za udio ioniziranog dijela dobije se izraz:

$$\alpha_{\text{A}^-} = \frac{1}{1 + 10^{\text{p}K_a - \text{pH}}} \quad (10)$$

a za udio neioniziranog dijela:

$$\alpha_{\text{HA}} = \frac{1}{1 + 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}} \quad (11)$$

Ukoliko promatramo baze, u odgovarajućim uvjetima neka baza B u otopini može primiti H<sup>+</sup> ion pri čemu nastaje protonirana vrsta BH<sup>+</sup>. Jednadžba disocijacije protonirane vrste BH<sup>+</sup> glasi:



s ravnotežnom konstantom disocijacije:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{B}]}{[\text{BH}^+]} \quad (13)$$

Ako se protonirana baza gleda na način da je to konjugirana kiselina „slobodne baze“, moguće je okarakterizirati kiseline i baze istim parametrom, negativnim logaritmom konstantom ionizacije, pK<sub>a</sub> i uspoređivati njihove jakosti. U tablici 3 dan je pregled klasifikacije kiselina i baza prema njihovoj jačini.<sup>20</sup>

Tablica 3. Klasifikacija kiselina i baza prema njihovoj jačini.<sup>20</sup>

JACINA	KISELINE	pK <sub>a</sub> BAZE
vrlo jake	< 0	> 14
jake	0 – 4,5	9,5 – 14
slabe	4,5 – 9,5	4,5 – 9,5
vrlo slabe	9,5 – 14	0 – 4,5
iznimno slabe	> 14	< 0

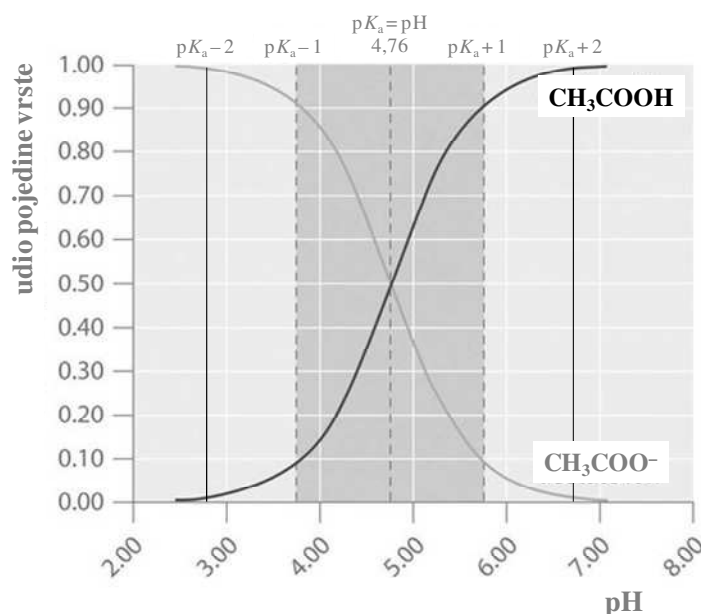
Iz jednadžbi 12 i 13, na sličan način kao i za kiselinu, izvodi se izraz za udio ioniziranog dijela baze, BH<sup>+</sup>:

$$\alpha_{\text{BH}^+} = \frac{1}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_a}} \quad (14)$$

te za neionizirani dio:

$$\alpha_{\text{B}} = \frac{1}{1 + 10^{\text{pK}_a - \text{pH}}} \quad (15)$$

Navedene jednadžbe udjela pojedinih vrsta mogu se prenijeti i u dijagram raspodjele za ionizirane i neionizirane vrste kao funkcija pH.<sup>20</sup> Za ilustraciju, dijagram raspodjele vrste koje su prisutne u vodenoj otopini octene kiseline prikazan je na slici 6.

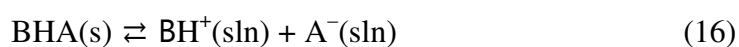


Slika 6. Dijagram raspodjele ionizirane ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) i neionizirane ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) vrste u vodenoj otopini octene kiseline ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ).

Iz prikazanog dijagrama vidljivo je pH područje u kojem je kiselina u potpunosti ionizirana i da razlika od otprilike dvije pH jedinice u odnosu na  $\text{pK}_a$  odgovara situaciji u kojoj se pojedina vrsta nalazi u udjelu većem od 99 %. Iz toga i proizlazi empirijsko pravilo koje vrijedi za većinu sustava da je za pripremu stabilne soli potrebna razlika od dvije pH jedinice u odnosu na  $\text{pK}_a$  vrijednost funkcijske skupine molekule, no valja imati na umu da je ono primijenljivo na vodene sustave.

### 2.2.1. Topljivost

Topljivost (eng. *solubility*) je maksimalna količina tvari koja se može otopiti u određenoj količini otapala pri zadanim uvjetima tlaka i temperature od kojih temperatura ima najveći utjecaj. U većini slučajeva topljivost tvari raste povećanjem temperature. Topljivost se izražava kao ravnoteža koja se uspostavlja pri otapanju čvrste tvari. Otapanje soli općenitog izraza BHA može se prikazati sljedećom jednačinom:

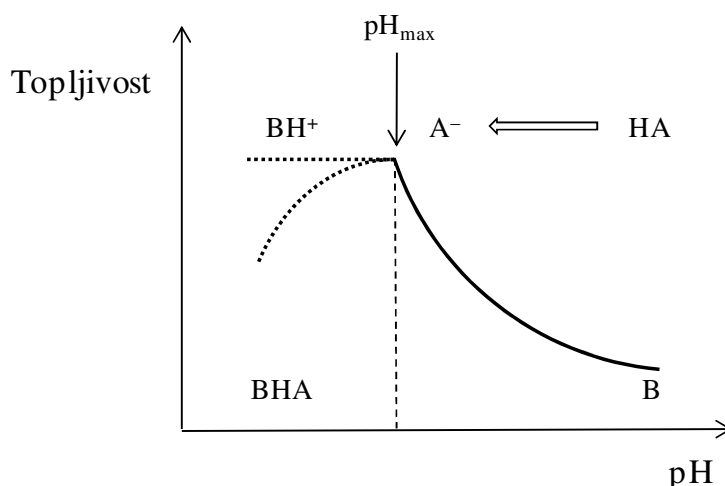


Ukoliko je BHA čista tvar, konstanta ravnoteže otapanja tj. produkt topljivosti te jednadžbe može se pisati kao:

$$K_{pt} = [BH^+] \cdot [A^-] \quad (17)$$

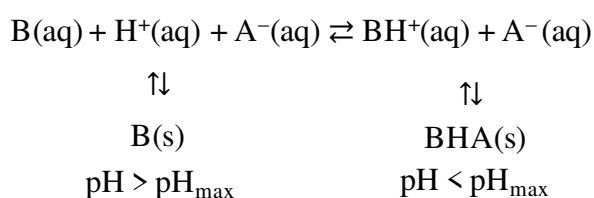
Zasićena je otopina neke tvari u ravnoteži s čvrstom fazom te tvari (neotopljenom tvari). Koncentracija zasićene otopine jednaka je topljivosti tvari. Koncentracije kationa  $BH^+$  i aniona  $A^-$  proporcionalne su koncentraciji zasićene otopine. Mjerenje topljivosti zahtjeva preciznu kontrolu temperature i sastava u tekućoj i čvrstoj fazi. Najčešće korištena metoda određivanja topljivosti temelji se na postizanju ravnotežene koncentracije suspenzije (metoda ravnotežne koncentracije) nakon čega slijedi odvajanje krutine te mjerenje koncentracije na primjer gravimetrijski, spektroskopski ili kromatografski način.<sup>37</sup> Iako je ova metoda jako precizna, može biti dugotrajna i trošiti velike količine uzorka zbog zahtjeva da se postigne ravnoteža. Od drugih metoda postoje takozvane dinamičke metode, metoda varijacije temperature prema kojoj se mijenja temperatura suspenzije i metoda dodatka otapala u kojoj se mijenja sastav suspenzije sve do postizanja bistre otopine.<sup>38-43</sup> Ukoliko je promjena temperature ili brzina dodatka otapala dovoljno mala, točka u kojoj nastaje bistra otopina može se smatrati da je jednaka topljivosti tvari. Prednost ovih metoda je što su manje zahtjevne i puno brže. Obje metode pokazale su pouzdane i reproducibilne rezultate za mnoge sustave.

Ukoliko promatramo otapanje u vodenim sustavima, tvari koje u svojoj strukturi posjeduju kisele ili bazične funkcijske skupine se mogu (de)protonirati promjenom pH vrijednosti sustava.<sup>20,44</sup> Slika 7 prikazuje topljivost neke djelomično topljive baze B u ovisnosti o pH vrijednosti vodene otopine.



Slika 7. Ovisnost topljivosti neke baze B o pH vrijednosti vodene otopine dodatkom neke kiseline HA.<sup>44</sup>

Prilikom otapanja nastaje mala količina  $BH^+$  koja se povećava dodatkom neke kiseline HA, dok pH vodene otopine pada. Topljivost tada naglo raste zbog jačih interakcija molekula vode i iona  $BH^+$ . Na nižim pH vrijednostima udio iona  $A^-$  i  $BH^+$  raste. Pri određenoj pH vrijednosti ( $pH_{max}$ ) nastala sol BHA počinje taložiti. Ovisno o topljivosti nastale soli BHA, topljivost može ostati konstantna ili padati kako se pH vrijednost sustava smanjuje.<sup>44</sup> Prilagođavanjem pH vrijednosti zasićene vodene otopine može se kontrolirati koji će oblik spoja u čvrstoj fazi biti u ravnoteži s otopinom. Shema 1 prikazuje ovisnost ravnoteže o pH u otopini soli.



Shema 1. Prikaz ovisnosti ravnoteže u otopini soli o pH.

Iz sheme 1 se može zaključiti, ako se pH vrijednost smanji u odnosu na  $pH_{max}$ , ravnoteža u otopini se pomiče prema nastanku soli. Ioni u takvoj otopini u ravnoteži su s čvrstom fazom soli BHA. Ukoliko se pH pomiče prema višim vrijednostim u odnosu na  $pH_{max}$ , ravnoteža se pomiče prema nastajanju „slobodne“ baze.<sup>45</sup>

Određivanje profila topljivosti soli u ovisnosti o pH zasićene otopine najčešće se izvodi tzv. „shake-flask“ metodom kojom se mjeri ravnotežna koncentracija spoja u zasićenoj vodenoj otopini.<sup>20,46-49</sup> Zasićene otopine pripremaju se dodatkom krutine u suvišku u kontroliranim

uvjetima pri čemu se ravnoteža postiže dugim tresenjem (nekoliko sati pa sve do 72 sata i više).

### 2.2.2. Higroskopnost

Higroskopnost je sposobnost tvari da apsorbira ili adsorbira vlagu iz okoline u kojoj se nalazi.<sup>50</sup> Interakcijom vode s krutinom mogu se značajno promijeniti fizikalno-kemijska svojstva poput stabilnosti, polimorfije, topljivosti, tečljivosti, kompresibilnosti i druga, a mogu dovesti i do nastanka novih spojeva kao što je slučaj kod hidrata.<sup>51,52</sup> S obzirom da se tijekom različitih faza razvoja, proizvodnje i čuvanja lijek tj. djelatna tvar dovodi u različite uvjete vlage higroskopnost tvari prepoznata je kao kritičan parametar u razvoju lijeka. Zbog navedenog razloga higroskopnost tvari mjeri se već u ranoj fazi procesa pripreme soli. Postoji mnoštvo različitih metoda za mjerenje higroskopnosti. Jednu od najstarijih metoda predložili su Callahan i suradnici.<sup>53</sup> Metoda se temelji na određivanju ravnotežnog sadržaja vlažnosti tvari izloženoj određenoj relativnoj vlažnosti upotrebom zasićenih otopina određenih soli. Iako je metoda i danas široko u upotrebi, sadrži brojne nedostatke od kojih su najveće velika potrošnja vremena i uzorka.

U farmaceutskoj industriji, higroskopnost tvari se određuje najčešće prema metodi opisanoj u Europskoj farmakopeji, prema kojoj se uzorak izlaže relativnoj vlažnosti od  $80 \% \pm 2 \%$  pri  $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  kroz 24 sata i nakon toga mjeri promjena mase uzorka.<sup>54</sup> Postotak porasta mase izračunava se prema sljedećem izrazu:

$$\% \text{ porast mase} = [(m_3 - m_2) / (m_2 - m_1)] \cdot 100 \quad (18)$$

gdje je  $m_1$  = masa prazne Petrijeve zdjelice,  $m_2$  = masa Petrijeve zdjelice i uzorka (početna) te  $m_3$  = masa Petrijeve zdjelice i uzorka 24 sata nakon izlaganja uvjetima vlažnosti.

Postoji pet razina higroskopnosti tvari: ne higroskopno, slabo higroskopno, umjereno higroskopno ili higroskopno, jako higroskopno i rastopljen uzorak (eng. *deliquescent*) (tablica 4). Metoda je veoma učinkovita i brza, no sadrži određene nedostatke. Tako na primjer metoda ne uzima u obzir već prisutnu tj. početnu količinu vode koja se nalazi u uzorku i ne prati moguće transformacije među čvrstim fazama.

Tablica 4. Klasifikacija higroskopnosti prema Europskoj Farmakopeji.<sup>54</sup>

KLASIFIKACIJA	KRITERIJ
ne higroskopno	porast u masi < 0,2 %
slabo higroskopno	porast u masi $\geq 0,2$ % do < 2 %
higroskopno	porast u masi $\geq 2$ % do < 15 %
jako higroskopno	porast u masi $\geq 15,0$ %
rastopljeni uzorak	adsorbiranom količinom vlage uzorak se otopio

Higroskopnost tvari smatra se nepoželjnim svojstvom jer može dovesti do promjena već spomenutih svojstava tvari, no pravilnim pristupom problemi s higroskopnošću mogu se nadvladati. Priprava soli, pravilan način pakiranja, korištenje sušila (tvari koje navlače vlagu) neki su od načina kako izbjeći poteškoće izazvane higroskopnošću uzorka.

### 2.3. Strategija odabira i pripreve farmaceutski prihvatljive soli

Odabir iona, odnosno kiseline ili baze, koji će se koristiti za pripravu soli primarno ovisi o  $pK_a$  vrijednosti funkcijske skupine spoja čiju se sol želi pripremiti. Stoga je prije samog postupka pripreme soli potrebno prvo odrediti njihove  $pK_a$  vrijednosti za odgovarajuće spojeve.<sup>55</sup> U poglavlju 2.2 je već spomenuto empirijsko pravilo o razlici od minimalno dvije jedinice u  $pK_a$  vrijednostima između  $pK_a$  vrijednosti grupe koja se ionizira i pripadajućeg iona. Kada se radi o slabim bazama ili kiselinama poželjna je i veća razlika od tri  $pK_a$  jedinice.<sup>56</sup> Postupak započinje otapanjem vrlo male količine aktivne tvari (par miligrama) u odgovarajućem otapalu od nekoliko mikrolitara i dodatak potencijalnog iona u ekvimolarnom omjeru ili nekom drugom ciljanom omjeru. Na taj način može se ispitati mogućnost pripreme soli većeg broja različitih soli u ranoj fazi istraživanja aktivne tvari kada još nisu dostupne velike količine aktivne tvari. U sljedećoj fazi, kada su poznati potencijalni ioni, istraživanje se provodi u nešto većem mjerilu od 10 do 50, ponekad 500 miligrama. U toj fazi dobivaju se preliminarni podaci o pojedinim fizikalno-kemijskim svojstvima (određene topljivosti, higroskopnost, kemijska čistoća, stabilnost, moguća polimorfija i slično). Uvećanjem na jedan do deset grama stječu se opsežnija saznanja o daljnjim pogodnostima za pripravu i upotrebu u formulacijskim istraživanjima. Neke važne karakteristike soli potrebne za konačnu evaluaciju pri odabiru najbolje soli navedene su u tablici 5.<sup>56</sup>



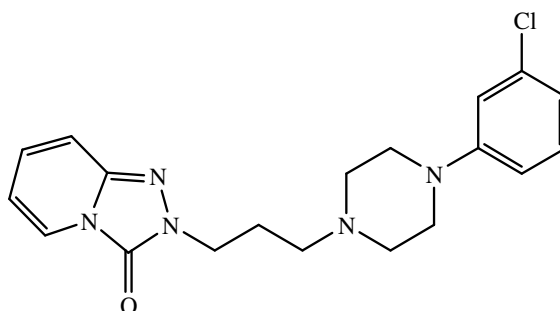
Tablica 5. Karakteristike soli koje najčešće doprinose konačnoj odluci pri odabiru najpogodnijeg kandidata.<sup>56</sup>

SVOJSTVA	
konstanta disocijacije	morfologija kristala i sklonost aglomeraciji
kemijska i fizikalna stabilnost	raspodjela veličine čestica
talište	pojava polimorfije
topljivost u vodi	kompresibilnost
topljivost u pojedinim organskim otapalima	nasipna gustoća rahlog uzorka
topljivost u ovisnosti pH vodene otopine	nasipna gustoća sabijenog uzorka
higroskopnost	tečljivost itd.

Osim pretformulacijskih i formulacijskih istraživanja, potrebno je uzeti u obzir i pogodnosti soli s procesnog i ekonomskog stajališta. Soli koje se pripremaju u niskom iskorištenju, s velikim udjelom ostatnih otapala, loše filterabilnosti, s velikim troškovima smatraju se nepoželjnima. Morfologija i habitus kristala soli su također bitni parametri pri odabiru soli, posebno u pripravi suhih oralnih oblika (tableta i kapsula) kada se u slučaju kristala s igličastom morfologijom može pojaviti problem s kompresibilnošću.<sup>10-12</sup>

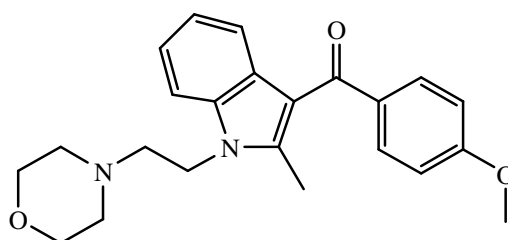
Nakon sveobuhvatne karakterizacije, usporedbe svojstava, pretformulacijskih, formulacijskih i farmakoloških istraživanja, cijene procesa i iskoristivosti procesa pripreme soli pristupa se odabiru optimalnog kandidata za daljnji razvoj. S obzirom da idealni slučajevi gotovo da ne postoje, najčešće se odabir svodi na kandidata koji posjeduje veći broj poželjnih svojstava.

U nekim prilikama postoje posebni zahtjevi koji mogu utjecati na odabir iona. Kada su potrebne jako dobro topljive soli, najčešći odabiri su kloridna, mesilatna ili natrijeva soli, no one mogu stvarati probleme kada je potrebno razviti pripravak s produženim djelovanjem. U tim situacijama primjerenije su soli pripravljene s pamoatnom i *p*-toluensulfonskom kiselinom koje najčešće imaju slabu topljivost. Primjer za to je djelatna tvar za liječenje depresije, 2-(3-(4-(3-klorofenil)piperazin-1-il)propil)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]piridin-3(2*H*)-on (trazodon, slika 8), koja se na tržištu nalazi u obliku kloridne soli. U svrhu pronalaženja soli manje topljivosti, pripremljen je niz soli od kojih se kao najbolji kandidat za pripravak s produženim djelovanjem pokazala sol pripravljena s *p*-toluenskom kiselinom, koja ima osam do deset puta manju topljivost u vodi u pH području između 1 i 5 u odnosu na kloridnu sol.<sup>57</sup>



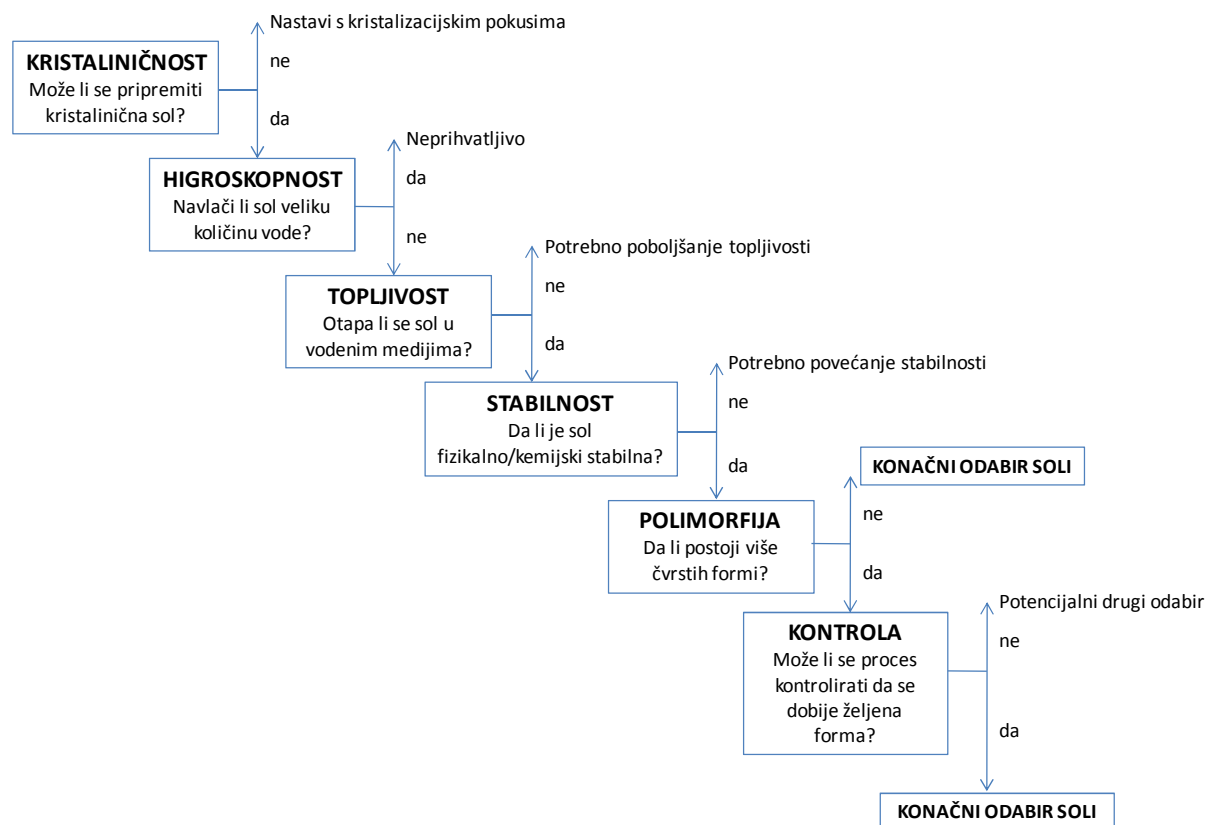
Slika 8. Strukturna formula 2-(3-(4-(3-klorofenil)piperazin-1-il)propil)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]piridin-3(2*H*)-ona (trazodon).

Kada se radi o lijekovima koji se koriste za liječenje visokog tlaka i dijabetesa, natrijeve soli nisu primjerene jer je u tim situacijama pacijentima ograničen unos natrija. U slučaju soli (4-metoksifenil)(2-metil-1-(2-morfolinoetil)-1*H*-indol-3-il)metanona (pravadolina, slika 9) s maleinskom kiselinom, za koju se navodi da uzrokuje bubrežne lezije kod pasa, pokazano je da uzrok lezijama nije djelatna tvar, već odgovarajući ion tj. oslobođena maleinska kiselina te stoga maleinska kiselina nije prikladan odabir za pripremu soli za navedenu djelatnu tvar.<sup>58</sup>



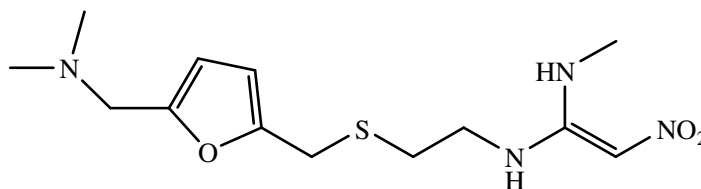
Slika 9. Strukturna formula (4-metoksifenil)(2-metil-1-(2-morfolinoetil)-1*H*-indol-3-il)metanona (pravadolina).

S obzirom da je svaki spoj tj. svaka sol jedinstvena i da su mogući već spomenuti posebni zahtjevi, ne postoji opća strategija odabira soli primjenjiva na sve slučajeve. Shema 2 prikazuje dijagram toka odabira optimalne soli.<sup>59</sup> Svaki korak odabira soli je relevantan i doprinosi odabiru optimalnog oblika soli. Međutim, izbor soli može biti težak zadatak, jer svaka sol daje jedinstvena svojstva matičnom spoju.



Shema 2. Dijagram toka odabira optimalne soli.<sup>59</sup>

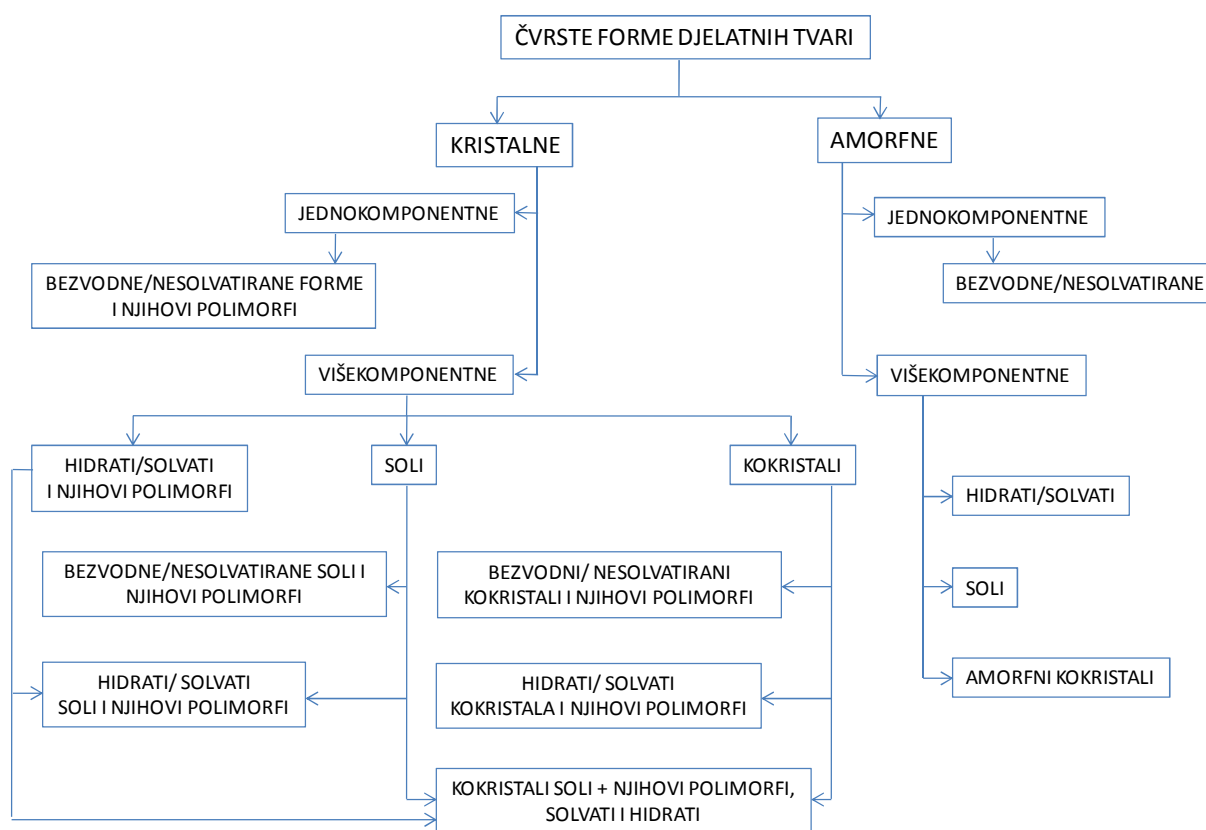
No, da ne valja strogo slijediti pravila pokazuje primjer kloridne soli (*E*)-*N*-(2-((5-((dimetilamino)metil)furan-2-il)metiltio)etil)-*N*-metil-2-nitroeten-1,1-diamina (ranitidin, slika 9) koja bi bila odbačena jer je higroskopna iznad 67 % relativne vlažnostim.<sup>60</sup> Međutim kloridna sol ranitidina ima bolja apsorpcijska svojstva u krv od „slobodne“ baze i danas jedan je od najuspješnijih lijekova na tržištu jer je visoka higroskopnost nadvladana razvojem pravilnog pakiranja.<sup>61</sup> Spomenuti slučaj pokazuje da je kod priprave i odabira soli važno uzeti u obzir sva bitna svojstva i da se ponekad neka svojstva koja se inače smatraju nepoželjnima mogu nadići drugim rješenjima.



Slika 9. Strukturna formula (*E*)-*N*-(2-((5-((dimetilamino)metil)furan-2-il)metiltio)etil)-*N*-metil-2-nitroetene-1,1-diamina (ranitidin).

## 2.3.1. Polimorfija farmaceutskih spojeva

Čvrste tvari dijele se na kristalne tvari uređene, pravilne strukture dugog doseg a i amorfne tvari s nasumičnim rasporedom molekula i uređenosti strukture kratkog doseg a. Kristalne tvari mogu postojati kao polimorfi, hidrati, solvati, kokristali, soli ili kao njihova kombinacija.<sup>16,17,62</sup> Shema 3 prikazuje detaljniju podjelu farmaceutskih čvrstih tvari.<sup>62</sup>



Shema 3. Podjela čvrstih formi djelatnih tvari.<sup>62</sup>

Polimorfija (grčki *polus* = mnogo, *morph* = oblik) je pojava čvrste tvari da kristalizira u dva ili više kristalnih oblika koji se razlikuju u pakiranju molekula (polimorfija pakiranja) i/ili konformaciji molekula (konformacijska polimorfija) u kristalnoj strukturi.<sup>16,17,63,64</sup> Kod malih organskih molekula, u koje spadaju i aktivne farmaceutske tvari, polimorfija je česta pojava.<sup>16,17</sup> Tablica 6 prikazuje neke od najprodavanijih lijekova iz 2009. godine te broj čvrstih formi djelatnih tvari.

Tablica 6. Neki od najprodavanijih lijekova (male molekule i soli malih molekula) u 2009. godini.<sup>65-69</sup>

ZAŠTIĆENO IME	DJELATNA TVAR	STRUKTURNA FORMULA	INDIKACIJA	BROJ ČVRSTIH FORMI
<b>Lipitor<sup>a</sup></b>	kalcijev 7-(2-(4-fluorofenil)-5-isopropil-3-fenil-4-(fenilkarbamoi)-1 <i>H</i> -pirol-1-il)-3,5-dihidroksiheptanoat  (Atorvastatin kalcij)		Povišeni LDL kolesterol	41
<b>Plavix<sup>b</sup></b>	5-(( <i>S</i> )-1-(2-klorofenil)-2-metoksi-2-oksoetil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2- <i>c</i> ]piridin-5-ium hidrogensulfat  (Klopidogrel hidrogensulfat)		Ateroskleroza	6
<b>Diovan<sup>c</sup></b>	2-( <i>N</i> -((2'-(2 <i>H</i> -tetrazol-5-il)bifenil-4-il)metil)pentanamido)-3-metilbutanska kiselina  (Valsartan)		Visoki tlak	10
<b>Abilify<sup>d</sup></b>	7-(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)butoksi)-3,4-dihidrokinolin-2(1 <i>H</i> )-on  (Aripiprazol)		Šizofrenija	9

<sup>a</sup> Pfizer, <sup>b</sup> Astellas, <sup>c</sup> Bristol-Myers Squibb, Sanofi Aventis, <sup>d</sup> Novartis, <sup>e</sup> Otsuka, Bristol-Myers Squibb

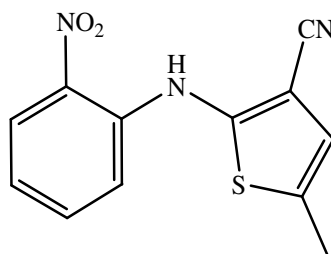
Zbog različitih međumolekulskih i unutarmolekulskih interakcija, poput vodikovih veza i van der Waalsovih interakcija u različitim kristalnim strukturama, polimorfi imaju različitu kinetičku i termodinamičku stabilnost.<sup>16,17</sup> Promatramo li termodinamičku stabilnost, dva

polimorfa mogu biti u monotropnom ili enantiotropnom odnosu. Monotropni odnos podrazumijeva da je jedan polimorf stabilan pri svim temperaturama nižima od tališta. Kod enantiotropnog odnosa postoji temperatura prijelaza ispod temperature taljenja kod koje polimorfi mogu reverzibilno prelaziti jedan u drugi. Odnosno pri temperaturama nižim od temperature prijelaza stabilan je jedan polimorf dok je pri temperaturama višim od temperature prijelaza stabilan drugi polimorf. Kao posljedica različite stabilnosti polimorfi se mogu razlikovati u fizikalno-kemijskim svojstvima što u konačnici može imati utjecaj na efikasnost i biodostupnost djelatne tvari. Tablica 7 sadrži popis nekih svojstava u kojima se mogu razlikovati čvrste forme djelatnih tvari.

Tablica 7. Neka svojstva u kojima se mogu razlikovati različite čvrste forme djelatnih tvari.<sup>63,64</sup>

FIZIKALNA SVOJSTVA	
morfologija/habitus	boja
gustoća	stabilnost
higroskopnost	kompresibilnost
talište	tečljivost
topljivosti	nasipna gustoća rahlog uzorka
tvrdoća	nasipna gustoća sabijenog uzorka itd.

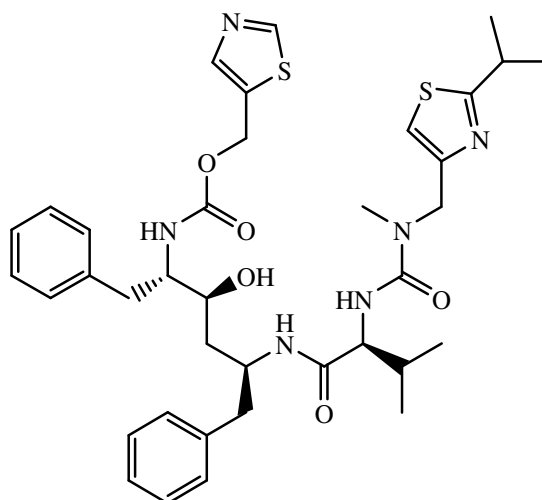
Jedan od ilustrativnih primjera razlike u fizikalnim svojstvima je polikromizam spoja 5-metil-2-((2-nitrofenil)amino)-3-tiofenkarbonitrila (ROY, slika 10). ROY je zapravo akronim, a odnosi se na crvene (eng. *red*), narančaste (eng. *orange*) i žute (eng. *yellow*) kristale pojedinih polimorfa. Razlike u boji spomenutih polimorfa odraz su razlika u konformacijama molekula, točnije razlika u torzijskim kutovima između *o*-nitroanilinske i tiofenske grupe, koje „grade“ pojedine polimorfne faze.<sup>70,71</sup>



Slika 10. Strukturna formula 5-metil-2-((2-nitrofenil)amino)-3-tiofenkarbonitrila (ROY).

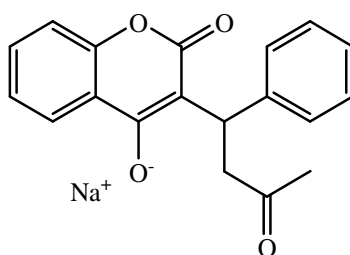
Važnost polimorfije među znanstvenicima te regulatornim agencijama je posebno naglasio „slavni“ slučaj tiazol-5-ilmetil-(2*S*,3*S*,5*S*)-3-hidroksi-5-((*S*)-2-(3-((2-isopropiltiazol-4-

il)metil)-3-metilureido)-3-metilbutanamido)-1,6-difenilheksan-2-ilkarbamata (ritonavir, slika 11), djelatne tvari za liječenje HIV-a tvrtke Abbott. Tijekom otkrića i razvoja lijeka primijećen je samo jedan polimorf nazvan forma I. Lijek je formuliran kao „soft gel“ kapsule i oralna otopina te lansiran na tržište 1996. godine. Dvije godine kasnije, nakon 240 proizvedenih šarži kapsula s formom I, u 241.-oj šarži kapsula dolazi do kristalizacije nove forme koja je kasnije nazvana forma II.<sup>72</sup> Forma II termodinamički je stabilna i značajno manje topljiva od forme I što je i dovelo do kristalizacije u kapsulama, ali i smanjene brzine topljivosti i bioraspodivnosti lijeka. Zbog nemogućnosti da ponovno proizvede formu I, Abbott je morao povući lijek s tržišta i razviti novu formulaciju s formom II. Bio je to veliki gubitak kako za tvrtku Abbott tako i za pacijente.



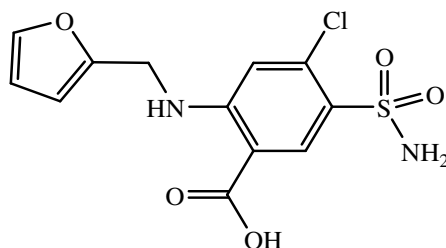
Slika 11. Strukturna formula tiazol-5-ilmetil-(2*S*,3*S*,5*S*)-3-hidroksi-5-((*S*)-2-(3-((2-isopropiltiazol-4-il)metil)-3-metilureido)-3-metilbutanamido)-1,6-difenilheksan-2-ilkarbamata (ritonavir).

2010.-te godine došlo je do povlačenja s tržišta 1,5 milijuna tableta popularnog antikoagulansa natrijevog 2-okso-3-(3-okso-1-fenilbutil)-2*H*-kromen-4-olata (varfarin natrija, slika 12) tvrtke Bristol Myers-Squibb koji se koristi kao solvat s 2-propanolom. Zbog varijabilnosti u količini 2-propanola, što je utjecalo na kristaliničnost djelatne tvari i efikasnost lijeka, lijek je uklonjen iz prodaje.<sup>64,73</sup>



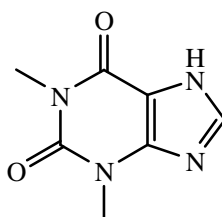
Slika 12. Strukturna formula natrijevog 2-okso-3-(3-okso-1-fenilbutil)-2*H*-kromen-4-olata (varfarin natrij).

Kemijska stabilnost jedan je od odlučujućih faktora za odabir polimorfa. U slučaju široko korištenog diuretika 4-kloro-2-(furan-2-ilmetilamino)-5-sulfamoilbenzojeve kiseline (furosemid, slika 13), fotolitička degradacija metastabilnog polimorfa odvija se puno brže u odnosu na termodinamički stabilan polimorf.<sup>74</sup>



Slika 13. Strukturna formula 4-kloro-2-(furan-2-ilmetilamino)-5-sulfamoilbenzojeve kiseline (furosemid).

Zanimljiva je razlika i u polimorfima kloridne soli (*E*)-*N*-(2-((5-((dimetilamino)metil)furan-2-il)metiltio)etil)-*N*-metil-2-nitroeten-1,1-diamina (ranitidin, slika 9) nazvanima forma 1 i forma 2. Forma 1 proizvedena prema originalnom postupku iz 1978. se loše filtrirala i teško sušila za razliku od forme 2 koja se dobivala uz prisutnost vode ili značajnijeg udjela polarnog otapala koja je imala dobra filterabilna svojstva i sušenje.<sup>75</sup> Mehanička svojstva često se smatraju sporednim faktorom u odabiru najpogodnije polimorfne forme, no ipak nisu zanemariva. U slučaju bronhodilatatora 1,3-dimetil-1*H*-purin-2,6(3*H*,7*H*)-diona (teofilin, slika 14), kristali monohidratne forme su puno manje lomljivi od bezvodne forme zbog čega su pogodniji za proces tabletiranja.<sup>76</sup>



Slika 14. Strukturna formula 1,3-dimetil-1*H*-purin-2,6(3*H*,7*H*)-diona (teofilin).



Navedeni primjeri zorno prikazuju da je za uspješan razvoj, proizvodnju i primjenu lijeka potrebno sveobuhvatno razumijevanje svojstava tvari u čvrstom stanju. Također, nužno je utvrditi javlja li se neka tvar u obliku polimorfa, hidrata i/ili solvata te, ukoliko se javlja, potrebno je definirati uvjete njihove pretvorbe. Takva detaljna karakterizacija pojedinih čvrstih formi i usporedba svojstava omogućuje odabir optimalnog polimorfa. Nadalje, potrebno je uzeti u obzir pogodnosti pojedine čvrste forme s procesnog i ekonomskog stajališta. Termodinamički stabilna forma općenito se smatra najpoželjnijom jer ima najmanji rizik promjene forme tijekom proizvodnje, pakiranja i skladištenja. Ponekad termodinamički stabilna forma ne posjeduje željena svojstva, od čega je najčešći nedostatak njena slaba topljivost zbog čega je pogodniji razvoj metastabilne forme. S druge strane metastabilne forme zahtijevaju detaljno poznavanje utjecaja brojnih faktora na moguću faznu transformaciju zbog čega je njezin razvoj izazovniji u odnosu na stabilnu formu.<sup>16,17,64</sup>

### 2.3.2. Metode karakterizacije farmaceutskih pripravaka u čvrstom stanju

Za detaljnu karakterizaciju djelatnih čvrstih tvari primijenjuju se i kombiniraju metode rentgenske strukturne analize sa spektroskopskim i metodama termičke analize te onima koje se temelje na mikroskopiji.<sup>77,78</sup>

Difrakcija rentgenskog zračenja na praškastom uzorku (PXRD, eng. *powder X-ray diffraction*) rutinska je tehnika u istraživanju kristalnih tvari.<sup>78</sup> Zbog prirode atoma i njihovog položaja unutar jedinične ćelije, različiti uzorci difraktograma odgovaraju različitim kristalnim strukturama te se stoga mogu smatrati „otiskom prsta“ pojedinih kristalnih faza. Najčešće se koristi za identifikaciju kristalnih formi, a ukoliko se prikupljanje podataka provodi u kontroliranim ili promijenjivim uvjetima temperature (VT-PXRD, eng. *variable temperature-powder X-ray diffraction*) mogu se proučavati fazni prijelazi među kristalnim formama te pratiti procesi desolvatacije. Difrakcija rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu (SCXRD, eng. *single crystal X-ray diffraction*) najbitnija je tehnika određivanja kristalne i molekulske strukture.<sup>79</sup> Kada je otežana priprema kvalitetnog jediničnog kristala, kristalna i molekulska struktura mogu se odrediti upotrebom difrakcije rentgenskog zračenja na praškastom uzorku.<sup>80</sup> S obzirom da su podaci dobiveni difrakcijom rentgenskog zračenja na praškastom uzorku „zbijeni“ na jednodimenzijski prikaz difraktograma praškastog uzorka, određivanje kristalne i molekulske strukture putem difrakcije rentgenskog zračenja na praškastom uzorku znatno je teži i zahtjevniji postupak.

Od spektroskopskih metoda najčešće korištene metode su nuklearna magnetska rezonancija u čvrstom stanju (ssNMR, eng. *solid-state nuclear magnetic resonance*), moćna tehnika strukturne analize čvrstih tvari, infracrvena spektroskopija (IR, eng. *infrared*) koja se temelji na apsorpciji zračenja i Ramanova spektroskopija koja se temelji na raspršenju zračenja.<sup>81-83</sup>

Kada se razmatra infracrvena spektroskopija, ovisno o području elektromagnetskog zračenja razlikujemo: srednju infracrvenu spektroskopiju, 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$  (mid-IR ili MIR, eng. *middle infrared spectroscopy*), blisku infracrvenu spektroskopiju, 14000 – 4000  $\text{cm}^{-1}$  (near-IR ili NIR, eng. *near infrared spectroscopy*), te daleku infracrvenu spektroskopiju, 400 – 10  $\text{cm}^{-1}$  (far-IR ili FIR, eng. *far infrared spectroscopy*), pri čemu su mid-IR i near-IR spektroskopije češće primijenjuju u karakterizaciji čvrstih tvari.<sup>84</sup> Mid-IR spektroskopija vrlo je korisna tehnika za istraživanje čvrstih tvari, koja omogućuje identifikaciju pojedinih funkcijskih skupina te pruža informacije o okolini molekula, dok se near-IR spektroskopija primijenjuje za primjenu za kvantitativnu i kvalitativnu analizu uzoraka. Iako se kao brza i jednostavna tehnika infracrvena spektroskopija često primijenjuje u analizi čvrstih tvari, određena ograničenja se javljaju pri analizi sustava koji sadrže vodu. Ramanova spektroskopija također je vrlo često korištena tehnika u identifikaciji čvrstih tvari te u proučavanju faznih transformacija, a ima veliku prednost nad infracrvenom spektroskopijom jer se može koristiti i u sustavima koji sadrže vodu.<sup>85</sup>

Među metodama termičke analize, diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC, eng. *differential scanning calorimetry*) i termogravimetrijska analiza (TGA, eng. *thermogravimetric analysis*) najčešće su korištene za karakterizaciju čvrstih tvari.<sup>86</sup> Diferencijalna pretražna kalorimterija je tehnika koja mjeri razliku toplinskih tokova u uzorku i u referentnom materijalu kao funkciju temperature ili vremena, pruža uvid u promjene koje se zbivaju tijekom kontroliranog grijanja ili hlađenja uzorka, a time daje i saznanja o mogućim faznim transformacijama. Termogravimetrijska analiza prati promjenu mase uzorka s promjenom temperature ili vremena. U farmaceutskoj industriji se najviše koristi pri identifikaciji i karakterizaciji solvata te hidrata.

Mikroskopija čvrstih tvari, posebice optička mikroskopija i pretražna elektronska mikroskopija (SEM, eng. *scanning electron microscopy*) primijenjuju se pri istraživanju morfologije, habitusa i veličine kristala te za istraživanje površinskih svojstava čvrstih tvari.<sup>87</sup> Pretražnim elektronskim mikroskopom mogu se dobiti slike površine promatranih uzoraka

visoke rezolucije, a zbog vrlo uske zrake elektrona, pretražni elektronski mikroskopi imaju veliku dubinu prodiranja dajući trodimenzijske, reljefne površine uzorka.

Već je spomenuto da prisustvo vode ima značajnu ulogu u fizikalno-kemijskoj stabilnosti djelatnih tvari. Tehnika koja se koristi za istraživanje učinka vlage na čvrstu tvar te ispitivanje ponašanja tvari na različitim uvjetima vlage, naziva se dinamička sorpcija vlage (DVS, eng. *dynamic vapor sorption*), dok je za određivanje količine vode u uzorku najpoznatija kulometrijska Karl Fischer metoda.<sup>88</sup> Veličina čestica izuzetno je bitan faktor kod pripreve djelatne tvari jer može utjecati na mnoge procese poput brzine filtracije, brzine otapanja, bioraspoloživost, ali i kemijske stabilnosti. Za određivanje raspodjele veličina čestica (PSD, eng. *particle size distribution*) najčešće se koriste difrakcijske tehnike od kojih je najpopularnija raspršenje laserskog zračenja pri malim kutevima (LALLS, eng. *low-angle laser light scattering*).<sup>89</sup>

Uz navedene konvencionalne tehnike intenzivno se koriste kombinacije više tehnika, poput Ramanove spektroskopije i diferencijalne pretražne kalorimetrije, termogravimetrijske analize i masene spektroskopije, diferencijalne pretražne kalorimetrije i infracrvene spektroskopije i mnoge druge, a razvijaju se nove i napredne tehnike poput diferencijalne pretražne kalorimetrije s moduliranjem temperature, diferencijalne pretražne kalorimetrije velikih brzina zagrijavanja i/ili hlađenja i druge. Razvoj računalnih programa i tehnologije omogućio je praćenje kristalizacijskih procesa te procesa u čvrstom stanju u realnom vremenu poput *in situ* difrakcije rentgenskih zraka na praškastom uzorku, *in situ* Ramanove spektroskopije, *in situ* infracrvene spektroskopije i mnoge druge.<sup>90,91</sup>

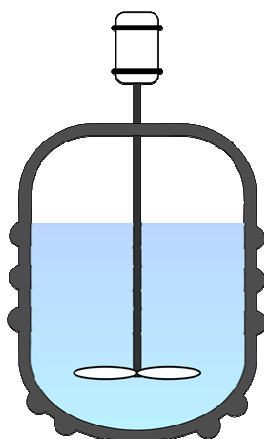
Multidisciplinarni pristup karakterizaciji čvrste tvari pruža detaljne, raznolike i komplementarne strukturne, termodinamičke i druge farmaceutski bitne informacije. Brzo rastući trend razvoja novih fizikalno-kemijskih analitičkih metoda omogućava do nedavno nezamislive primjene i saznanja.

### 2.3.3. Optimiranje postupka kristalizacije s ciljem pripreve produkta na velikoj skali željenih svojstava u čvrstom stanju

Kristalizacija je proces izdvajanja čvrste faze iz plinovite ili tekuće faze, iako se na spomen kristalizacije najčešće misli na kristalizaciju iz otopine. Neke od metoda kristalizacije su: kristalizacija hlađenjem, kristalizacija isparavanjem, kristalizacija dodatkom otapala u kojem tvar nije topljiva, kristalizacija kemijskom reakcijom, kristalizacija difuzijom u sustavu

tekuće-tekuće, kristalizacija difuzijom u sustavu tekuće-plinovito i druge. Ako se govori o otopini, preduvjet za kristalizaciju jest nastanak prezasićene otopine. Prezasićena otopina sadrži veću količinu otopljene tvari nego što to odgovara topljivosti te tvari pri zadanim uvjetima. Takav je sustav metastabilan, a kristalizacija je rezultat nastojanja sustava da se vrati u ravnotežno stanje. Mehanizam nastajanja kristala dijeli se u dvije faze: nukleaciju i rast kristala.<sup>92</sup> Međudjelovanje termodinamičkih i kinetičkih faktora određuje put kojim će se odvijati kristalizacija. Utjecanjem na pojedine faktore moguće je kontrolirati kristalizaciju i tako dobiti kristale željenih svojstava.

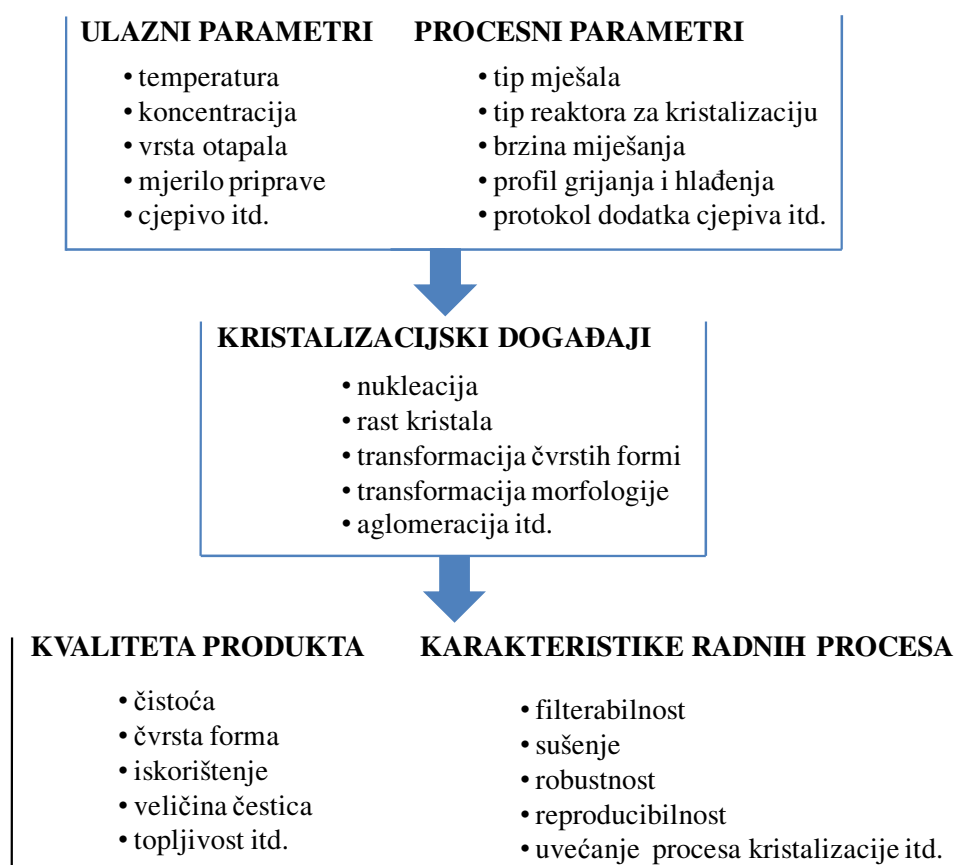
U proizvodnji djelatne tvari završni koraci obično uključuju kristalizaciju, izolaciju, sušenje i mljevenje te svaki od tih procesa odnosno postupaka može utjecati na kvalitetu proizvoda (čistoća, čvrsta forma, veličina i morfologija kristala).<sup>93</sup> Kristalizacija iz otopine je najčešći put pripreve i pročišćavanja djelatne tvari, a šaržna kristalizacija jednostavan je način izvedbe procesa kristalizacije djelatne tvari (shema 4).<sup>93,94</sup>



Shema 4. Šaržni reaktor za kristalizaciju.

Razvoj efikasnog, robusnog i reproducibilnog postupka kristalizacije je složeni proces koji uključuje poznavanje svojstava djelatne tvari u čvrstom stanju. Da bi se dobio produkt željenih svojstava izuzetno je važno pažljivo odabrati te optimirati kristalizacijske uvjete i parametre procesa. Za dobru kontrolu procesa kristalizacije potrebno je razumijevanje uzroka i efekta parametara koji određuju kvalitetu produkta kao što su temperatura, koncentracija, brzina miješanja i vrsta mješala, karakteristike cjepiva i drugo (shema 5).<sup>95</sup> Praćenje kristalizacije u realnom vremenu (*in situ*) omogućava direktnu kontrolu parametara koji najviše utječu na kvalitetu produkta. Mjerenje refleksije fokusiranog snopa (eng. *focused beam reflectance measurement*, FBRM) jedna je od tehnika kojom je moguće pratiti različite

dogadaje kristalizacije poput nukleacija, aglomeracija, otapanje i drugo. FBRM sonda namijenjena je za mjerenje broja i veličine čestica u suspenziji.<sup>96-98</sup> Iako tumačenje podataka dobivenih FBRM mjerenjem nije jednostavno, već samo praćenje trendova tijekom kristalizacijskog postupka može donijeti mnoge informacije o kristalizacijskim događajima, poput npr. fazne transformacije. Kontrola i optimiranje procesa smanjuje neželjene događaje poput na primjer nezadovoljavajuće čistoće i pojave neželjene čvrste forme, što može usporiti kasnije procese poput izolacije (filtracije) i sušenja. Općenito rečeno, optimiranje procesa smanjuje varijacije kvalitete među šaržama.



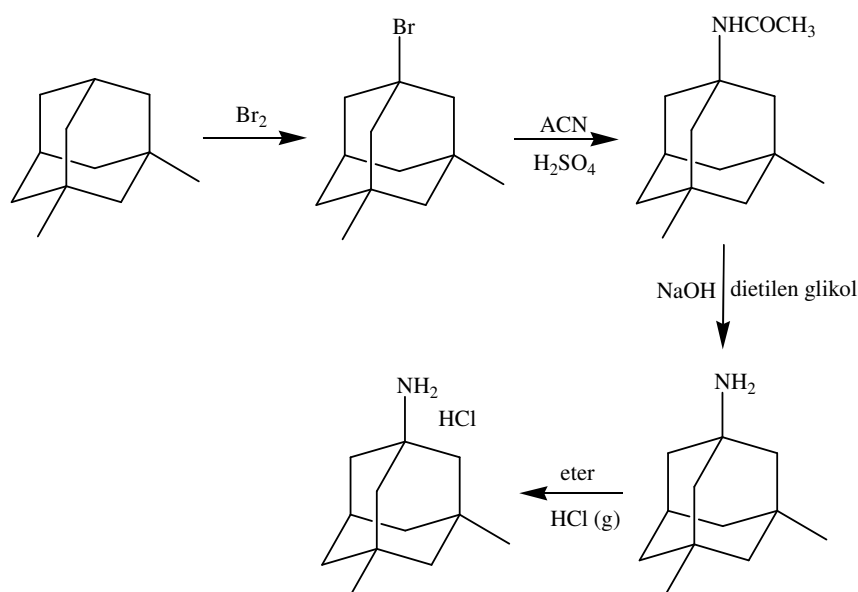
Shema 5. Povezanosti parametara kristalizacije, pojedinih kristalizacijskih događaja s kvalitetom i karakteristikama radnih procesa.<sup>95</sup>

Ponekad, optimiranje procesa može biti zahtjevan zadatak posebno za sustave kod kojih se javlja polimorfija. Najefikasniji način kontrole polimorfije je cijepljenje otopine kristalima željene čvrste forme. Kristali cjepiva moraju biti kemijski i polimorfno čisti, u protivnom kristalizacija može rezultirati smjesom formi.

U konačnici kontrola i optimiranje postupka kristalizacije omogućavaju razvoj robusnog i reproducibilnog procesa čiji je ultimativni cilj uvećanje procesa na industrijsko mjerilo i proizvodnja materijala zadovoljavajući postavljene zahtjeve kvalitete.

#### 2.4. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamin (MMN) i njegovi spojevi

3,5-dimetiladamantan-1-ilamin ili memantin je prvi puta sintetiziran 1963. godine, a 1968. godine patentiran je od Eli Lilly and Company tvrtke te proizveden prema shemi 6.<sup>99,100</sup>



Shema 6. Put sinteze 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (MMN) tj. 3,5-dimetiladamantan-1-amonijevog klorida (MMN HCl).<sup>100</sup>

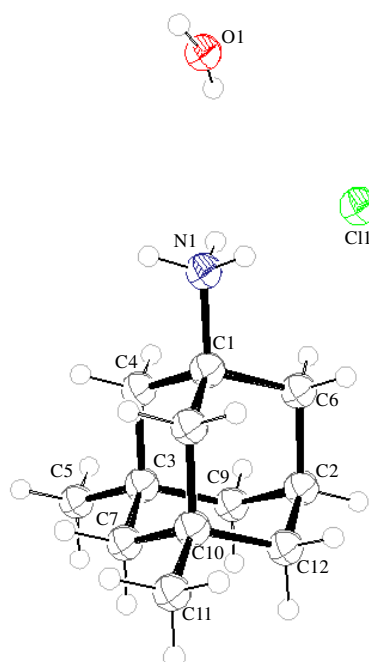
Proces pripreve memantina uključuje bromiranje 1,3-dimetiladamantana pri čemu se dobiva 1-brom-3,5-dimetiladamantan, koji dalje reagira sa acetonitrilom i sumpornom kiselinom te nastaje 1-acetamid-3,5-dimetiladamantan. Dobiveni međuprodukt, 1-acetamid-3,5-dimetiladamantan se hidrolizira s natrijevim hidroksidom do 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina tj. do memantina koji se pak izolira iz eterske otopine u obliku HCl soli upotrebom plinovitog klorovodika. Nakon toga je objavljeno više alternativnih postupaka pripreve memantina kojima je ključni polazni materijal 1-halo-3,5-dimetiladamantan (halo = klor ili brom).<sup>101</sup>

Zbog loših fizikalno-kemijskih svojstava, od toga da se pri ambijentalnim uvjetima nalazi kao ulje ili krutina niskog tališta, da lako sublimira i da ima slabu topljivosti memantinu je ograničena upotreba u farmaceutskim procesima. S obzirom da je MMN jaka baza ( $pK_a = 10,7$ ), ta činjenica otvara mogućnosti pripreve soli s mnogim organskim i anorganskim

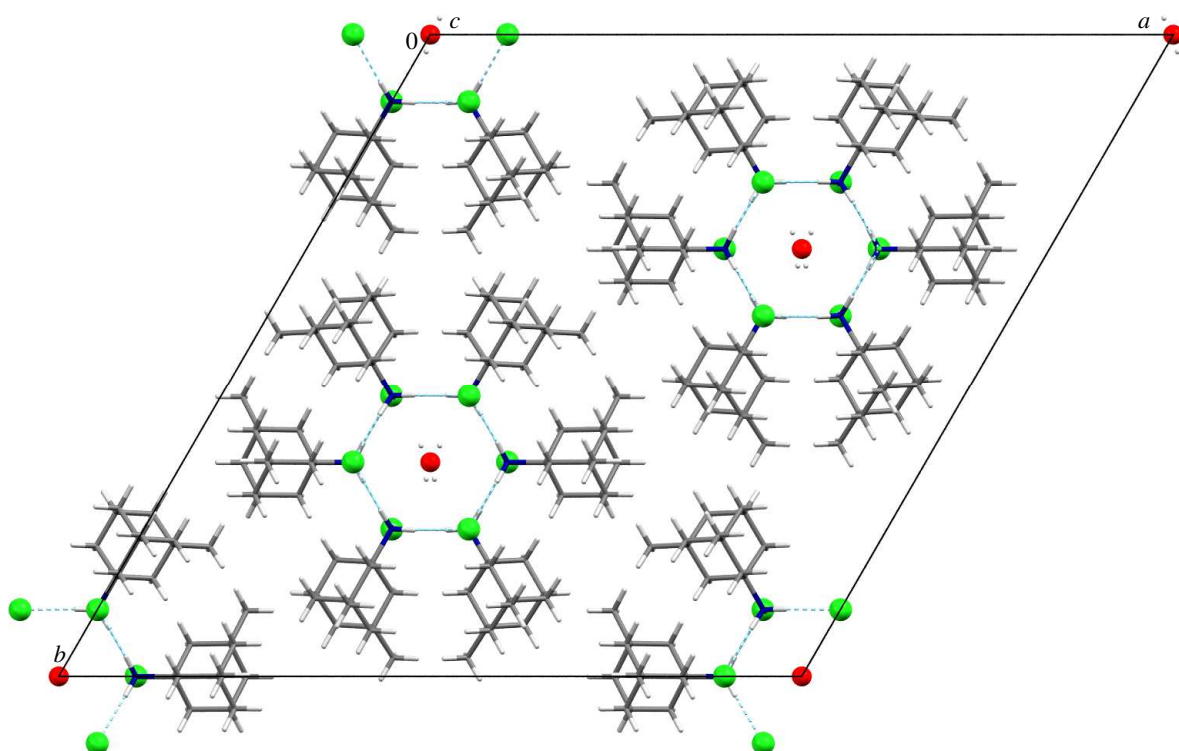
kiselinama.<sup>102</sup> Iz navedenih razloga, MMN je idealan kandidat za studije pretraživanja i priprave soli.

3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev klorid ili memantin hidroklorid (MMN HCl) je aktivna farmaceutska tvar dostupna na tržištu u obliku ljekovitog pripravka pod zaštićenim imenima Namenda tvrtke Forest, Abixa i Ebixa tvrtke Lundbeck te Axura i Akatinol tvrtke Merz.<sup>5-7</sup> Djeluje kao antagonist NMDA (*N*-metil-D-aspartat) receptora te se koristi u liječenju demencije povezane s umjerenom do teškom Alzheimerovom bolešću.<sup>103-105</sup> Kako je već bilo spomenuto, prvi je puta pripremljen 1963. godine.<sup>99</sup> Prema dostupnoj literaturi, postoje tri kristalne forme MMN HCl, nazvane forma I, forma II i forma R.<sup>100,106,107</sup>

MMN HCl forma I se može dobiti prema ranije navedenom postupku ili prema nekom od spomenutih alternativnih postupaka.<sup>99,101</sup> Kristalizira u obliku bezbojnih igličastih kristala (slika 18), za male organske molekule, trigonskom sustavu i vrlo rijetkoj prostornoj grupi *R* 3*c* (slike 15 i 16).<sup>108,109</sup> Kristalna struktura MMN HCl forme I pohranjena je u kristalografskoj bazi podataka (CSD verzija 5.40, ažurirana u studenom/2018. godine), pod oznakom DUCYAC.<sup>108,109</sup> Jedinična ćelija sadrži čak 18 formulskih jedinki dok asimetrična jedinica sadrži jedan 3,5-dimetiladamantan-il-amonijev kation, jedan kloridni anion i jednu desetinu molekule vode (slika 16). N–H···Cl vodikove veze između MMN kationa i aniona klorida čine četiri šesteročlana prstena u tipičnoj „stolac“ i „čamac“ konformaciji, praveći specifični motiv vodikovih veza  $R_6^3(12)$  prsten (slika 17).<sup>110-114</sup> Kloridni anioni kao akceptori veze povezani su kationima memantina preko N–H···Cl vodikovih veza tvoreći kanale u kojima se nalaze molekule vode (slika 17). Specifičnost ove strukture su paralelni kanali u koje lako ulaze i izlaze molekule vode zbog čega se memantin hidroklorid ponaša kao prirodni vlagomjer.

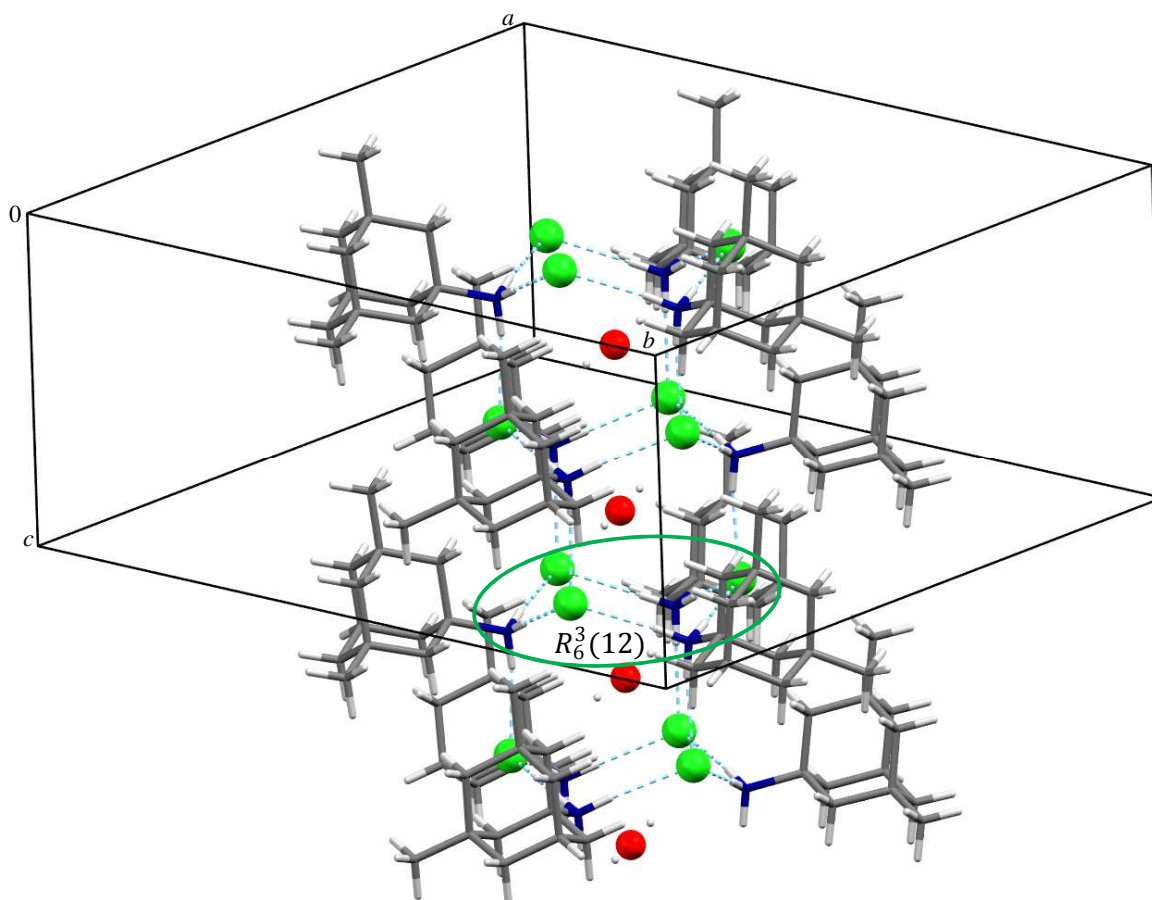


Slika 15. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN HCl forme I.  
Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.

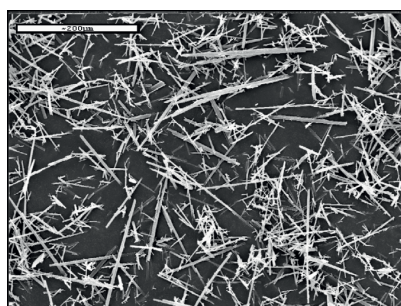


Slika 16. Projekcija kristalne strukture MMN HCl forme I pohranjena u kristalografskoj bazi podataka (CSD verzija 5.40, ažurirana u studenom 2018. godine).<sup>108</sup> Molekule vode se nalaze u neredu. Prikazana je samo glavna komponenta.





Slika 17. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN HCl forme I.



Slika 18. SEM slika igličastih kristala MMN HCl forme I.

MMN HCl forma II pripravljena je kristalizacijom MMN HCl iz smjese vode i acetona metodom hlapljenja.<sup>107</sup> Metodom difrakcije rentgenskih zraka na praškastom uzorku utvrđeno je da difraktogram tek izoliranih kristala ne odgovara literaturno opisanoj formi I koja je dobivena sušenjem uzorka. Difraktogram praškastog uzorka tek izoliranih kristala proglašen je forma II. Termogravimetrijska analiza mokrih kristala pokazala je gubitak mase od 7,5 % u

temperaturnom području od 30 °C do oko 110 °C. Ta vrijednost upućivala je da se radi o monohidratnoj formi MMN HCl jer je u dobrom slaganju s teorijskom vrijednosti MMN HCl · H<sub>2</sub>O u kojoj udio vode iznosi 7,7 %. Da se radi o monohidratnoj formi dodatno je potvrdila Karl Fisher analiza udjela vode u uzorku koja je, kako navodi literatura u dobrom slaganju s gubitkom mase po termogravimetrijskoj analizi.

MMN HCl forma R, dobivena je reakcijom 1-acetamid-3,5-dimetiladamantana i koncentrirane klorovodične kiseline, nakon čega je otapalo u potpunosti uklonjeno, a dobiveni suhi ostatak suspendiran u acetonu.<sup>106</sup> Prema podacima u literaturi, difraktogram praškastog uzorka dobivenih kristala razlikuje se od difraktograma praškastih uzoraka MMN HCl forme I i forme II, no iz dostupnih podataka ne može se sa sigurnošću utvrditi o kakvoj se strukturi radi.<sup>106</sup>

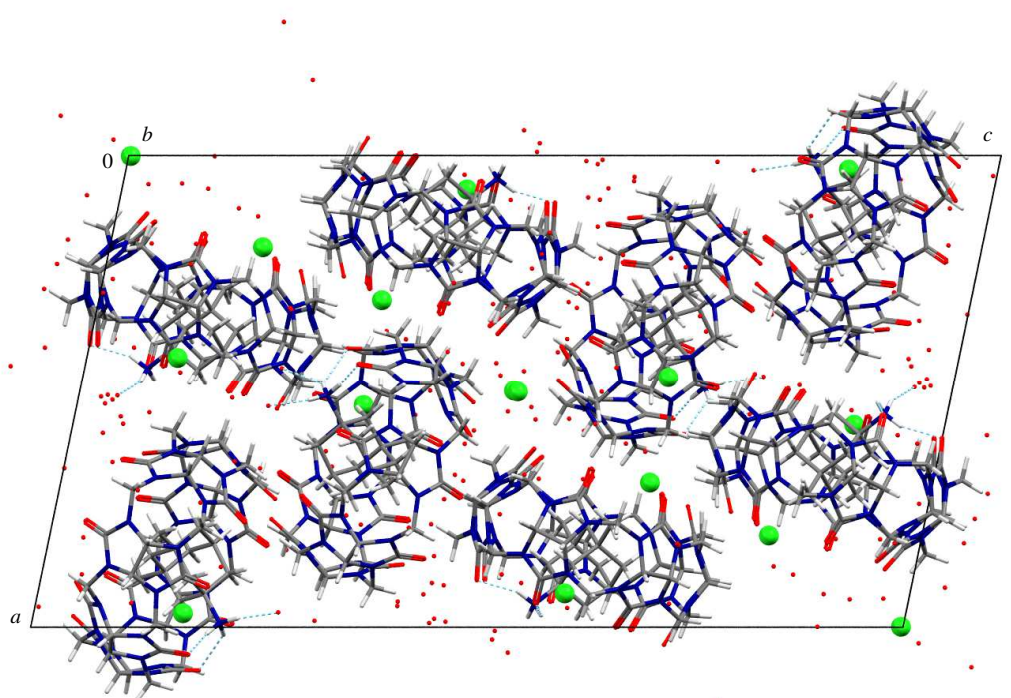
Uz već spomenuto da MMN HCl forma I kristalizira u obliku igličastih kristala (slika 18, tablica D1), literatura navodi da je MMN HCl moguće dobiti i u obliku kristala „jednakog oblika“ (eng. *equant shaped*) no prema dostupnim podacima ne može se sa sigurnošću utvrditi o kojoj se kristalnoj formi radi.<sup>115</sup> Isti izvor uspoređuje svojstva igličastih kristala i kristala „jednakog oblika“ MMN HCl te pokazuje unaprijeđena svojstva tečljivosti kristala „jednakog oblika“ za razliku od igličastih kristala MMN HCl koji uopće nisu tečljivi. Uz bolja svojstva tečljivosti, kristali MMN HCl „jednakog oblika“ pokazuju i unaprijeđena svojstva nasipne gustoće u rastresitom i zbijenom stanju te stlačivosti zbog čega su kristali MMN HCl „jednakog oblika“ pogodniji za procese tabletiranja.

Yuhong i suradnici te Scherm i suradnici u patentnim prijavama spominju dobivanje više farmaceutski prihvatljivih soli.<sup>116</sup> Autori navode pripravu memantin hidrobromida odnosno hidrojodida kristalizacijom iz eterske otopine memantina s plinovitim bromovodikom odnosno s 45 % jodovodičnom kiselinom. Slično navode i za pripremu memantin sulfata koji su pripravili iz eterske otopine memantina s 50 %, odnosno koncentriranom sumpornom kiselinom. Yuhong i suradnici donose za pripravljene soli samo kromatografsku čistoću i da su njihova tališta iznad 300 °C. Nadalje, isti autori bez ikakvih podataka, osim kromatografske čistoće spominju pripravu soli memantina s: dušičnom, fosfornom, oksalnom, limunskom, metansulfonskom, *p*-toluensulfonskom, maleinskom, fumarnom i vinskom kiselinom.

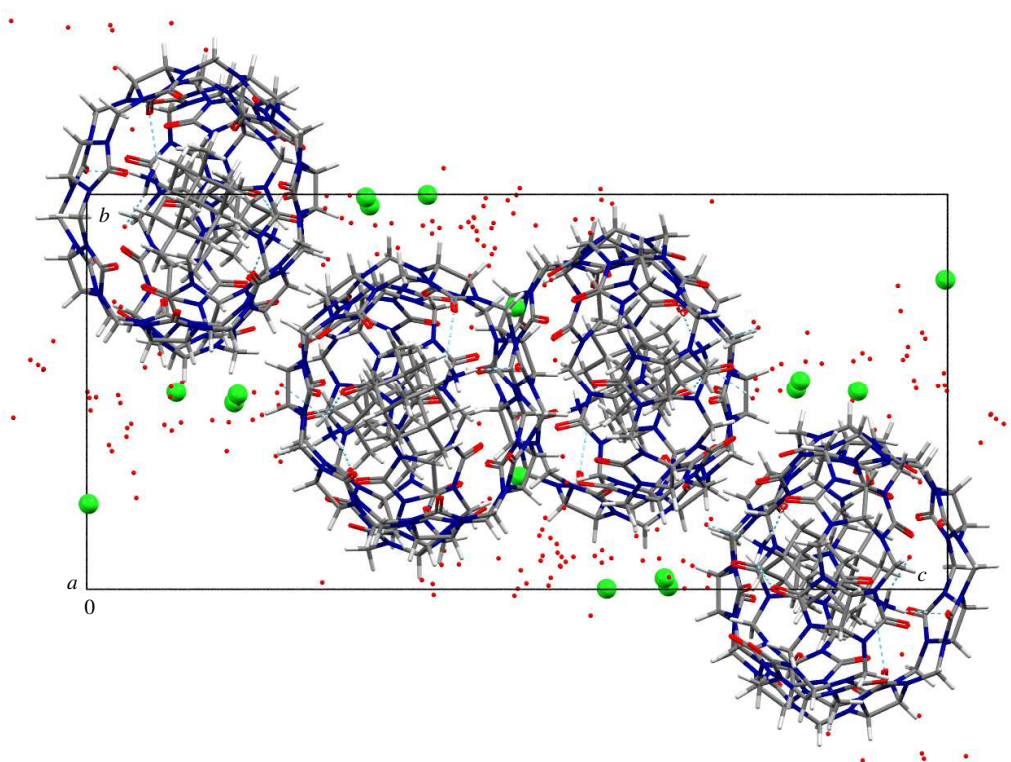
Od ostalih farmaceutski prihvatljivih soli, Mittapelly i suradnici opisuju sol memantina s pamoičnom kiselinom.<sup>117</sup> Žute kristale memantin pamoata pripremili su izmjenom iona

memantin hidroklorida i natrijevog pamoata u vodi. Autori pokazuju da je topljivost memantin pamoata u vodi oko 1250 puta manja u odnosu na topljivost memantin hidroklorida.<sup>117</sup> Zbog značajno smanjene topljivosti, memantin pamoat pogodan je za formulacije s produženim djelovanjem.

Od ostalih soli, patentna literatura opisuje niz soli memantina s drugim djelatnim tvarima koji djeluju kao COX inhibitori (inhibitori ciklooksigenaza) tj. kao analgetici.<sup>102</sup> Priprava, kristalne forme i pojedine polimorfne forme opisane su za memantin *S*-naporksen, trifulsal, HTB (2-hidroksi-4-trifluorometil benzojevu kiselinu), *S*-ibuprofen, diklofenak, aspirin te *R*- i *rac*-flubiprofen. Nadalje, Goel opisuje dvije soli memantina s polioksometalnim anionima, memantin tetratiomolibdat i memantin tetratiovolframat.<sup>118</sup> Kao njihovu prednost navodi dvostruko djelovanje, memantin za liječenje neurodegenerativne simptome demencije i konkretno tetratiomolibdat za smanjenje povišene razine bakra koja dovodi do razvoja Wilsonove bolesti te izvrsnu stabilnost i dobru topljivost. U svrhu različitih formulacija memantina pripremljene su i soli memantina s hiperforinom, oktahidrohiperforinom te različitim oksopolimerima koji su topljivi u vodi.<sup>119</sup> Liu i suradnici te Huang i suradnici proučavali su nastajanje domaćin-gost kompleksa MMN HCl · kukurbit[n]uril.<sup>120-121</sup> U kristalografskoj bazi podataka (CSD verzija 5.40, ažurirana u studenom/2018. godine), pohranjene su dvije strukture spomenutih kompleksa: kukurbit[7]uril memantin klatrat klorid hidrat oznake SULZIJ (slika 19) i 3,5-dimetiladamantan-1-amonijev kukurbit[8]uril klorid heksakozahidrat, oznake GAWLIC (slika 20).<sup>108,122,123</sup> Četvrta struktura u kristalografskoj bazi podataka (CSD verzija 5.40, ažurirana studeni/2018. godine) sa strukturnim motivom kationa MMN je 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev 2,4,6-triisopropilbenzensulfonat oznake YECDIW (slika 21).<sup>108,124</sup>



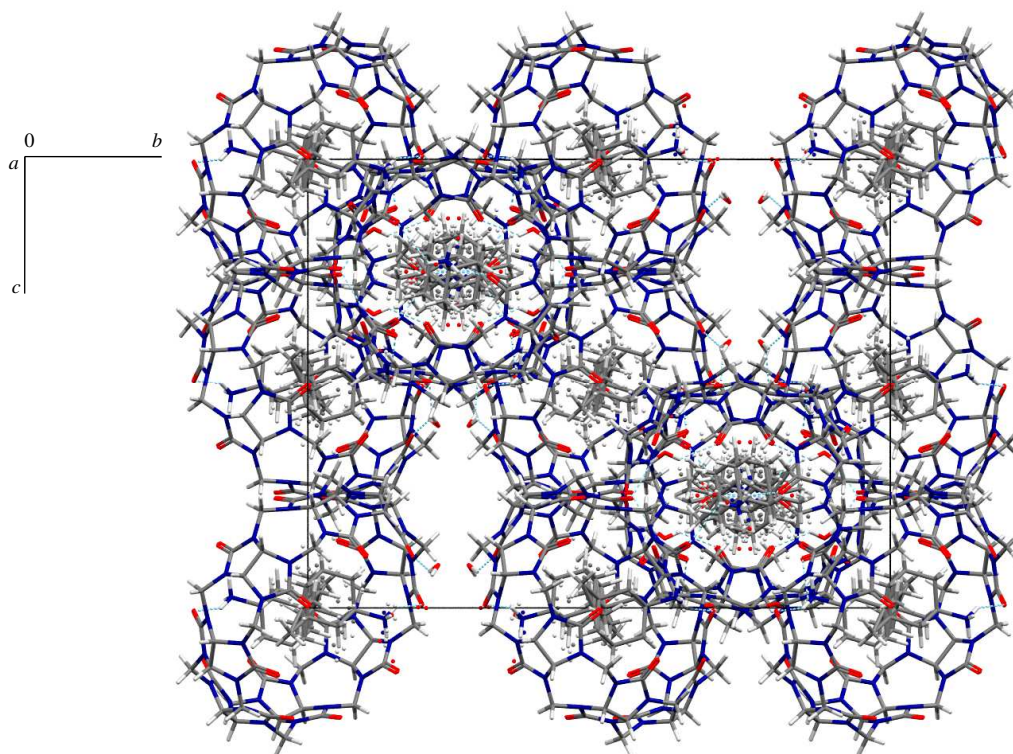
a)



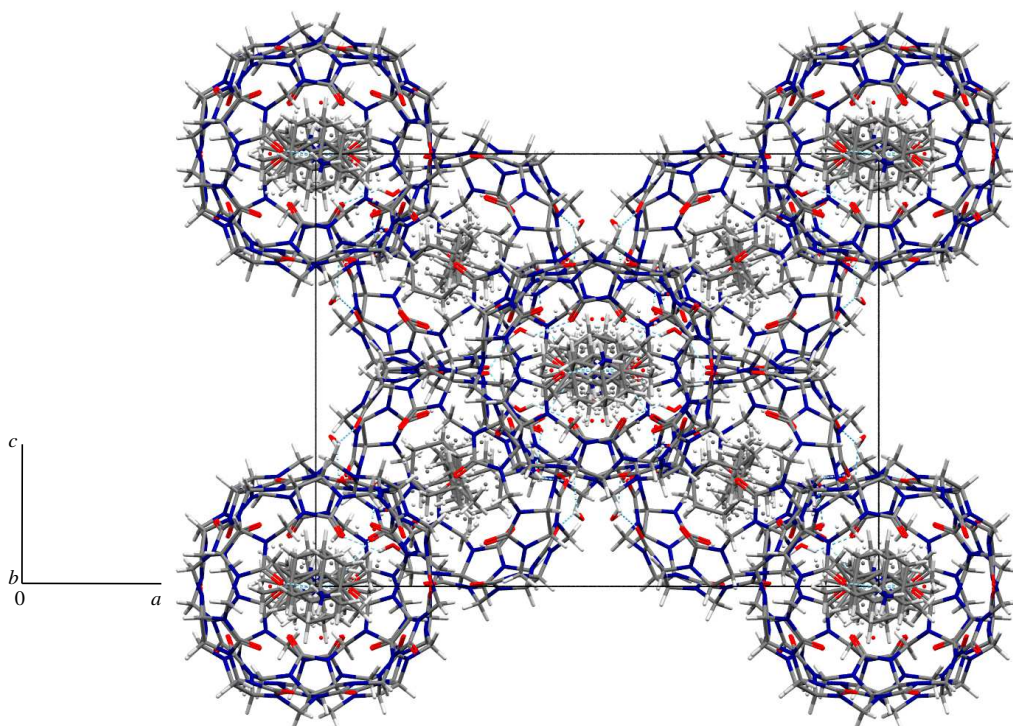
b)

Slika 19. Projekcija kristalne strukture kukurbit[7]uril memantin klatrat klorid hidrata 3,5-dimetiladamantan-1-amonijev kukurbit[8]uril klorid heksakozahidrat pohranjena u kristalografskoj bazi podataka (CSD verzija 5.40,

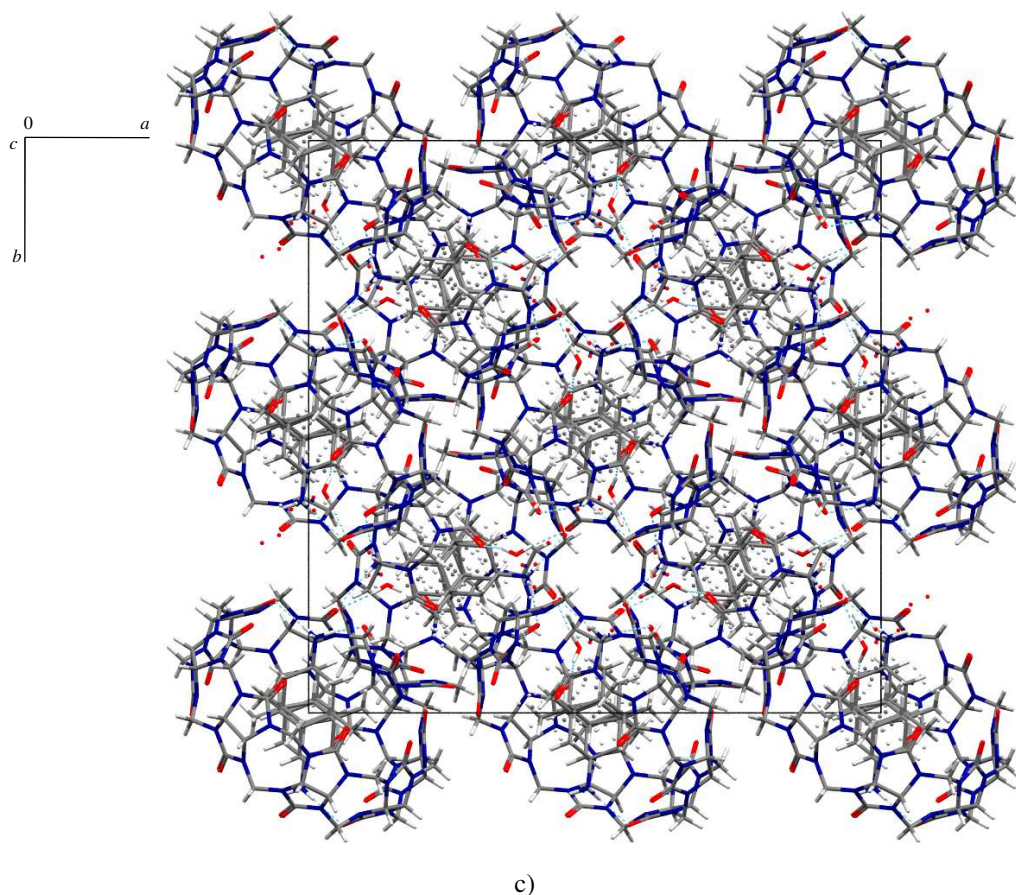
ažurirana u studenom 2018. godine), oznake SULZIJ: a) pogled duž kristalografske  $a$ -osi, b) pogled duž kristalografske  $b$ -osi.<sup>108</sup> Kationi prisutni u strukturi nalaze se u neredu.



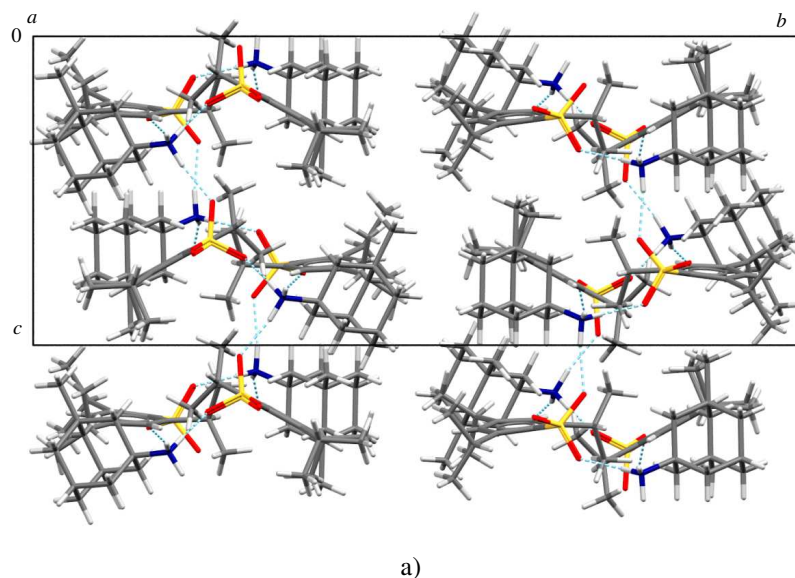
a)

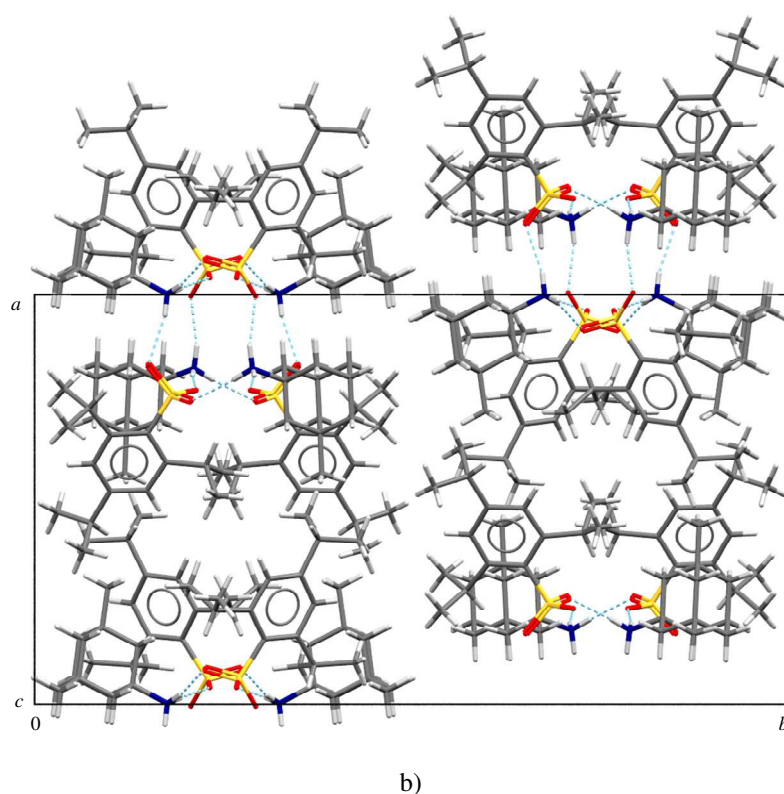


b)



Slika 20. Projekcija kristalne strukture 3,5-dimetiladamantan-1-amonijevog kukurbit[8]uril klorida heksakozahidrata pohranjena u kristalografskoj bazi podataka (CSD verzija 5.40, ažurirana u studenom 2018. godine), oznake GAWLIC: a) pogled duž kristalografske  $a$ -osi, b) pogled duž kristalografske  $b$ -osi, c) pogled duž kristalografske  $c$ -osi.<sup>108</sup> Kationi MMN i molekule vode se nalaze u neredu.





Slika 21. Projekcija kristalne strukture 3,5-dimetiladamantan-1-amonijev 2,4,6-triisopropilbenzensulfonata pohranjena u kristalografskoj bazi podataka (CSD verzija 5.40, ažurirana u studenom 2018. godine), oznake YECDIW: a) pogled duž kristalografske *a*-osi, b) pogled duž kristalografske *c*-osi.<sup>108</sup>

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Polazni materijali

Polazni spoj, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamin trivijalnog imena memantin (MMN) pripremljen je neutralizacijom iz kloridne soli, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog klorida, MMN HCl. MMN HCl je nabavljen od PLIVA Hrvatska d.o.o., čistoće  $\geq 99,9\%$ .

Sve kemikalije bile su komercijalno dostupne na tržištu i korištene su bez dodatnog pročišćavanja (tablica 8).

Tablica 8. Popis i podrijetlo korištenih kemikalija u pripravi spojeva i kristalizacijskim pokusima.

KEMIKALIJA	PROIZVOĐAČ	ČISTOĆA
sumporna kiselina	Kemika PLIVA Hrvatska d.o.o.	96 % tehn.
fosforna kiselina	Kemika	85 %
metansulfonska kiselina	Sigma Aldrich	$\geq 99\%$
maleinska kiselina	Sigma Aldrich	99+ %
fumarna kiselina	Sigma Aldrich	$\geq 99\%$
natrijev hidroksid	Kemika	p.a.
acetone	Kemika	p.a.
acetonitril	Kemika	p.a.
amil-acetat	Acros	99 %
amil-alkohol	Sigma Aldrich	$\geq 98\%$
anisole	Fluka	$\geq 99\%$
2-metil-tetrahidrofuran	Honeywell	$\geq 99,5\%$
benzocitril	Sigma Aldrich	99 %
benzotrifluorid	Sigma Aldrich	99 %
benzil-alkohol	Sigma Aldrich	99,8 %
1-butanol	Kemika	p.a.
2-butanol	Merck	99 %
<i>i</i> -butanol	Sigma Aldrich	$\geq 99,5\%$
<i>tert</i> -butanol	Sigma Aldrich	$\geq 99\%$
<i>i</i> -butil-acetat	Sigma Aldrich	99 %
<i>n</i> -butil-acetat	Kemika	p.a.
<i>sec</i> -butil-acetat	Sigma Aldrich	99 %
<i>tert</i> -butil-acetat	Sigma Aldrich	$\geq 99\%$



$\gamma$ -butirolakton	Sigma Aldrich	$\geq 99$ %
klorobenzen	Sigma Aldrich	99 %
kloroform	Kemika	p.a.
kumen	Sigma Aldrich	98 %
cikloheksan	Kemika	p.a.
cikloheksanol	Sigma Aldrich	99 %
cikloheksanon	Sigma Aldrich	99,5 %
ciklopentan	Sigma Aldrich	95 %
<i>p</i> -cimol	Sigma Aldrich	99 %
dibutil-eter	Fluka	$\geq 99$ %
1,2-dikloroetan	Sigma Aldrich	99,8 %
diklorometan	Kemika	p.a.
dietil-eter	Kemika	p.a.
dietil-malonat	Sigma Aldrich	99 %
dietilenglikol	Sigma Aldrich	99 %
diisopropil-eter	Kemika	p.a.
1,2-dimetoksietan	Sigma Aldrich	$\geq 99$ %
dimetilacetamid	Sigma Aldrich	$\geq 99$ %
dimetilformamid	Sigma Aldrich	99,8 %
dimetil-sulfoksid	Kemika	p.a.
1,4-dioksan	Sigma Aldrich	$\geq 99,0$ %
etanol	Kemika	p.a.
96 % etanol	Kemika	p.a.
etil-acetat	Kemika	p.a.
etilaceto-acetat	Sigma Aldrich	99 %
etil-format	Merck	$> 98$ %
etilbenzen	Honeywell	$\geq 99$ %
etilenglikol	Kemika	p.a.
fluorobenzen	Sigma Aldrich	99 %
glicerol	Sigma Aldrich	$> 99$ %
<i>n</i> -heptan	Kemika PLIVA Hrvatska d.o.o.	p.a. tehn.
1,1,1,3,3,3-heksafluoro-2-propanol	Sigma Aldrich	$\geq 99$ %
<i>n</i> -heksan	Kemika	p.a.
mesitilen	Sigma Aldrich	98 %
metanol	Kemika	p.a.
2-metoksietanol (EGME)	Fluka	$\geq 99,5$ %
2-metoksietil-eter (DEGDME)	Sigma Aldrich	99 %
metil-acetat	Sigma Aldrich	99 %
metil-benzoat	Sigma Aldrich	99 %

etil-metil-ke-ton	Kemika	p.a.
<i>isobutil</i> -metil-ke-ton	Sigma Aldrich	≥ 99 %
2-metilpiridin	Acros	98 %
1-metil-2-pirolidinon	Sigma Aldrich	99,5 %
metil- <i>tert</i> butil-eter	Sigma Aldrich	99,8 %
nitrobenzen	Fluka	99 %
nitrometan	Sigma Aldrich	≥ 95 %
<i>i</i> -oktan	Kemika	98 %
<i>n</i> -oktan	Sigma Aldrich	98 %
1-oktanol	Merck	99 %
1-pentanol	Sigma Aldrich	99 %
<i>i</i> -pentanol	Sigma Aldrich	98,5 %
<i>i</i> -propil-acetat	Sigma Aldrich	99,6 %
<i>n</i> -propil-acetat	Sigma Aldrich	99 %
1,2-propilen-karbonat	Sigma Aldrich	99 %
<i>n</i> -pentan	Kemika	p.a.
3-pentanon	Sigma Aldrich	≥ 99,5 %
fenioksietanol (EGPhE)	Sigma Aldrich	≥ 99 %
$\alpha$ -pinen	Acros	97 %
polietilenglikol (prosječna molekulska masa 200)	Sigma Aldrich	-
1-propanol	Merck	99,8 %
2-propanol	Kemika PLIVA Hrvatska d.o.o.	p.a. tehn.
2-pirolidinon	Sigma Aldrich	99 %
dietoksimetan	Sigma Aldrich	99,7 %
tetrahidrofuran	Sigma Aldrich	99,9 %
toluen	Sigma Aldrich	99,8 %
tributil-fosfat	Sigma Aldrich	97 %
trikloroetilen	Kemika	p.a.
2,2,2-trifluoroetanol	Acros	99,8 %
$\gamma$ -valerolakton	Sigma Aldrich	99 %
voda	demineralizirana	
<i>m</i> -ksilen	Sigma Aldrich	99 %
<i>o</i> -ksilen	Sigma Aldrich	98 %
<i>p</i> -ksilen	Sigma Aldrich	99 %

### 3.2. Opis postupka pripreve 3,5-dimetiladamantan-il-amina (MMN)

#### 3.2.1. Dobivanje 3,5-dimetiladamantan-il-amina (memantina) neutralizacijom iz 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog klorida (MMN HCl)

10,0 g MMN HCl se otopi u 300 mL vode pri sobnoj temperaturi te se tako pripremljenoj otopini doda određeni volumen organskog otapala odabranog za pripravu pojedine soli (tablica 9). Nastaloj emulziji se podese pH vrijednost tako da bude u području od 10,4 do 11,0 dodatkom 40 % vodene otopine natrijevog hidroksida. Reakcijska smjesa se miješa pomoću magnetske miješalice daljnjih 15 minuta pri ambijentalnim uvjetima. Reakcijska smjesa se potom ostavi nekoliko minuta kako bi se formirali slojevi. Nastali slojevi se odijele, a organski sloj u kojem je otopljen MMN se sačuva te koristi dalje u pripravi odgovarajuće soli.

Tablica 9. Pregled organskih otapala koja su korištena za pripravu odgovarajuće soli memantina.

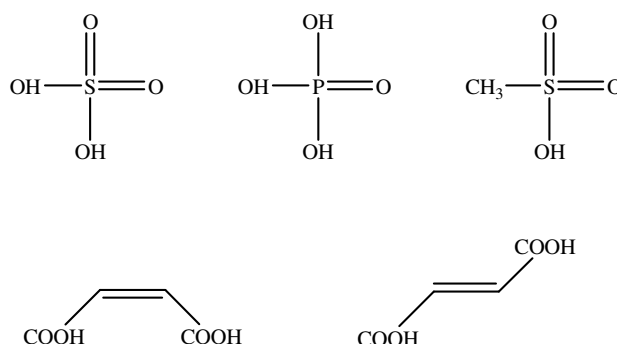
OZNAKA SOLI	FORMULA SOLI	OTAPALO	V(OTAPALA) / mL
MMN HSUL	$(C_{12}H_{19}NH_3)HSO_4$	toluen	100
MMN SUL	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2SO_4$	<i>n</i> -heptan	100
MMN DHP	$(C_{12}H_{19}NH_3)H_2PO_4$	toluen	100
MMN MES	$(C_{12}H_{19}NH_3)CH_3SO_3$	toluen	140
MMN HMAL	$(C_{12}H_{19}NH_3)C_4H_3O_4$	toluen	100
MMN MAL	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2C_4H_2O_4$	<i>n</i> -BuOAc	200
MMN FUM · H <sub>2</sub> FUM	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2C_8H_6O_8$	toluen	100
MMN FUM	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2C_4H_2O_4$	<i>n</i> -BuOAc	200

### 3.3. Opis postupka pripreve kristalnih formi soli memantina

Općeniti postupak pripreve odgovarajuće soli memantina uključivao je dodatak željene kiseline u otopinu memantina u danom organskom otapalu (tablice 9 i 10, slika 22), pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1.

Tablica 10. Pregled odabranih kiselina i njihove  $pK_a$  vrijednosti.

KISELINA	$M_r$	KEMIJSKA FORMULA	$pK_{a1}$	$pK_{a2}$	$pK_{a3}$
sumporna kiselina	98,08	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-3,0	2,0	-
fosforna kiselina	97,99	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	2,1	7,2	12,3
metansulfonska kiselina	96,10	CH <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H	-1,9	-	-
maleinska kiselina	116,07	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	1,9	6,1	-
fumarna kiselina	116,07	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	3,0	4,4	-



Slika 22. Strukturne formule kiselina korištenih za priprevu odgovarajućih soli memantina u okviru ovog rada. Gornji red (redom) – sumporna kiselina, fosforna kiselina i metansulfonska kiselina. Donji red (redom) – maleinska kiselina i fumarna kiselina.

### 3.3.1. Priprava 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata (MMN HSUL)

#### 3.3.1.1. Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata (MMN HSUL forma 1)

U toluensku otopinu MMN, pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, doda se 60 mL acetona pri sobnoj temperaturi. Pripremljena smjesa se dobro izmiješa te joj se, pri sobnoj temperaturi, dokapa 2,8 mL 96 % sumporne kiseline. Korištenjem magnetske miješalice, dobivena suspenzija se miješa daljnjih 20 sati pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere se dva puta s 15 mL acetona te suši oko 16 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 12,3 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NH<sub>3</sub>)HSO<sub>4</sub> ( $\eta = 96 \%$ ) (tablica D1) u obliku pločastih (laminarnih) kristala.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekrizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaži se 40 mg MMN HSUL, suspendira u 3,0 mL *isobutil*-metil-ketona uz grijanje i otopi dodatkom 1,0 mL apsolutnog

etanola uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave igličastih kristala MMN HSUL forme 1 (tablica D7).

### 3.3.2. Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog sulfata (MMN SUL)

#### 3.3.2.1. Postupak pripreme 3,5-dimetiladamantan-1-amonijevog sulfata tetrahidrata (MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O)

U *n*-heptansku otopinu MMN pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, doda se 33,5 mL 2-propanola pri sobnoj temperaturi. Pripremljena smjesa se dobro izmiješa te joj se pri sobnoj temperaturi dokapa 1,3 mL 96 % sumporne kiseline. Korištenjem magnetske miješalice, dobivena suspenzija se miješa daljnjih 2,5 sata pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere se jednom s 15,0 mL smjese *n*-heptana i 2-propanola u omjeru 4:1 i jednom s 15,0 mL *n*-heptana te suši oko 16 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 8,9 g bezbojnog sitnokristalnog produkta formule (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> · 4 H<sub>2</sub>O ( $\eta = 84 \%$ ) (tablica D1) u obliku izduženih pločica i iglica.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekrizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaži se 35 mg MMN HSUL te otopi u 1,0 mL vode uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave pločastih kristala MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O (tablica D8).

#### 3.3.2.2. Postupak pripreme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog sulfata 2-propanolata (MMN SUL · 3 (2-PrOH))

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekrizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaži se 35 mg MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O te otopi u 3,9 mL 2-propanola uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave igličastih kristala MMN SUL · 3 (2-PrOH) (tablice D1 i D8).

### 3.3.3. Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog dihidrogenfosfata (MMN DHP)

#### 3.3.3.1. Postupak pripreme 3,5-dimetildamantan-1-ilamonijevog dihidrogenfosfata (MMN DHP)

U toluensku otopinu MMN, pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, doda se 85,0 mL acetona pri sobnoj temperaturi. Pripremljena smjesa se dobro izmiješa te joj se pri sobnoj temperaturi dokapa 3,2 mL 85 % fosforne kiseline. Dobivena suspenzija se miješa pomoću

magnetske miješalice daljnjih 2,5 sata pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 15,0 mL acetona te suši oko 16 h pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 12,3 g bezbojnog sitnokristalnog produkta formule  $(C_{12}H_{19}NH_3)H_2PO_4$  ( $\eta = 96 \%$ ) (tablica D1) u obliku sitnih pločica.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekristalizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaže se 35 mg MMN DHP te suspendira u 5,0 mL apsolutnog etanola uz grijanje. Suspenzija se vruće profiltrira i filtrat ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave igličastih kristala MMN DHP (tablica D9).

### 3.3.3.2. *Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog dihidrogenfosfata monohidrata (MMN DHP · H<sub>2</sub>O)*

U Petrijevu zdjelicu se stavi 0,50 g MMN DHP i ostavi u eksikatoru napunjenom vodom (tj. na 100 % relativne vlažnosti) pri sobnoj temperaturi tijekom minimalno 24 sata. Ovim postupkom pripremljen je produkt formule  $(C_{12}H_{19}NH_3)H_2PO_4$  u kvantitativnom iskorištenju (tablica D1) u obliku sitnih pločica.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekristalizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaže se 40 mg MMN DHP te suspendira u 5,0 mL 96 % etanola uz grijanje. Suspenzija se vruće profiltrira i filtrat ostavi stajati u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN DHP · H<sub>2</sub>O u obliku heksagonskih pločica (tablica D7).

### 3.3.4. *Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog mesilata (MMN MES)*

#### 3.3.4.1. *Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog mesilata (MMN MES) forme 1*

U toluensku otopinu MMN pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, dokapa se 3,3 mL metansulfonske kiseline pri sobnoj temperaturi. Korištenjem magnetske miješalice dobivena suspenzija se miješa daljnjih 2,5 sata pri sobnoj temperaturi, ohladi do temperature između 0 °C i 5 °C i miješa dodatna 2 sata. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 15,0 mL toluena te suši oko 15 sati pri 40 °C i 15 mbara. Dobivena krutina se suspendira u 125,0 mL acetona pri sobnoj temperaturi i miješa oko 18 sati. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 15,0 mL acetona i suši oko 15

sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 11,7 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)CH_3SO_3$  ( $\eta = 92 \%$ ) (tablica D1) u obliku sitnih pločica.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekristalizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaže se 40 mg MMN MES forme 1, suspendira u 5,0 mL *i*-propil-acetata uz grijanje i otopi dodatkom 0,5 mL metanola uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN MES forme 1 u obliku heksagonskih pločica (tablica D10).

#### 3.3.4.2. *Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog mesilata cikloheksan solvata (MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>)*

1,0 g MMN MES forme 1 se otopi u 10,0 mL 2-butanola pri temperaturi između 50 i 55 °C. Otopina se ohladi na oko 35 °C, dokapa 35,0 mL cikloheksana, ohladi na sobnu temperaturu i miješa daljnjih 30 minuta. Dobivena suspenzija se ohladi do temperature između 0 °C i 5 °C i miješa dodatna 3 sata. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere s 3,0 mL cikloheksana te suši pri ambijentalnim uvjetima. Ovim postupkom dobiveno je 0,72 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)CH_3SO_3 \cdot 1/8 C_6H_{12}$  ( $\eta = 72 \%$ ) (tablica D1) u obliku pločastih (laminarnih) kristala.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekristalizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaže se 35 mg MMN MES forme 1 te otopi u 1,0 mL 2-butanola uz grijanje. Vruća otopina doda se u 7,0 mL cikloheksana pri sobnoj temperaturi. Pripremljena smjesa se ostavi stajati u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> u obliku heksagonskih pločica (tablica D10).

#### 3.3.4.3. *Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-amonijevog mesilata (MMN MES) forme 2*

U toluensku otopinu MMN pripravljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, dokapa se 3,3 mL metansulfonske kiseline pri sobnoj temperaturi. Korištenjem magnetske miješalice dobivena suspenzija se miješa oko 2 sata pri sobnoj temperaturi, ohladi do temperature između 0 °C i 5 °C i miješa dodatna 2 sata. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 15,0 mL toluena te suši oko 15 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 12,3 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)CH_3SO_3$  ( $\eta = 97 \%$ ) (tablica D1) u obliku pločastih (laminarnih) kristala.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekrizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 ml odvaži se 30 mg MMN MES forme 1 te otopi u 7,0 ml toluena uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN MES forme 2 u obliku romboidnih pločica (tablica D11).

*3.3.4.4. Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-amonijevog mesilata (MMN MES) forme 3*

3,0 g MMN MES forma 1 se grije pri 130 °C i 15 mbar oko 17 sati. Kristali se ohlade pri ambijentalnim uvjetima. Ovim postupkom dobiveno je 3,0 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava jednakog polaznom materijalu u kvantitativnom iskorištenju (tablica D1) u obliku sitnih pločica.

*3.3.5. Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-amonijevog hidrogenmaleata (MMN HMAL)*

*3.3.5.1. Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogenmaleata MMN HMAL*

U toluensku otopinu MMN pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, doda se 60,0 mL acetona pri sobnoj temperaturi. Pripremljena smjesa se dobro izmiješa te joj se dosipa 5,6 g 99 % maleinske kiseline pri sobnoj temperaturi. Korištenjem magnetske miješalice dobivena suspenzija se miješa daljnjih 2 sata pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 15,0 mL acetona te suši oko 15 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 11,5 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)C_4H_3O_4$  ( $\eta = 84 \%$ ) (tablica D1) u obliku romboidnih pločica.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekrizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaži se 40 mg MMN HMAL te suspendira u 5,0 mL 1,4-dioksana uz grijanje. Suspenzija se vruće profiltrira i filtrat ostavi stajati u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN HMAL u obliku prizmi (tablica D12).

*3.3.5.2. Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogenmaleata monohidrata (MMN HMAL · H<sub>2</sub>O)*

U Petrijevu zdjelicu stavi se 0,50 g MMN HMAL i ostavi u eksikatoru napunjenom vodom (tj. na 100 % relativne vlažnosti) pri sobnoj temperaturi tijekom minimalno 24 sata. Ovim



postupkom pripremljen je produkt sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)C_4H_3O_4 \cdot H_2O$  u kvantitativnom iskorištenju (tablica D1) u obliku romboidnih pločica.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekristalizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvažuje se 40 mg MMN HMAL te suspendira u 5,0 mL *n*-propil-acetata uz grijanje i otopi dodatkom 1,0 mL apsolutnog etanola uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN HMAL · H<sub>2</sub>O u obliku prizmi (tablica D12).

### 3.3.6. Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog maleata (MMN MAL)

#### 3.3.6.1. Postupak pripreme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog maleata (MMN MAL) forme 1

U *n*-butil-acetatnu otopinu MMN pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, dodaje se pri sobnoj temperaturi 2,7 g 99 % maleinske kiseline. Korištenjem magnetske miješalice dobivena suspenzija se miješa daljnjih 5 sati pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 20,0 mL *n*-butil-acetata te suši oko 15 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 10,4 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)_2C_4H_2O_4$  ( $\eta = 94 \%$ ) (tablica D1) u obliku praškastih kristala.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekristalizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvažuje se 35 mg MMN MAL forme 1, suspendira u 5,0 mL *n*-propil-acetata uz grijanje i otopi dodatkom 0,5 mL *N,N*-dimetilformamida uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave štapičastih kristala MMN MAL forme 1 (tablica D13).

#### 3.3.6.2. Postupak pripreme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog maleata (MMN MAL) forme 2

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekristalizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvažuje se 30 mg MMN MAL forme 1, suspendira u 5,0 mL nitrometana uz grijanje i otopi dodatkom 0,5 mL metanola uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave štapičastih kristala MMN MAL forme 2 (tablica D13).

#### 3.3.7. Priprava kristalnih formi 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata (MMN FUM)

### 3.3.7.1. *Postupak pripreve kokristala 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata i fumarne kiseline (MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM)*

U toluensku otopinu MMN pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, doda se 60,0 mL acetona pri sobnoj temperaturi. Pripremljena smjesa se dobro izmiješa te joj se dosipa 5,6 g fumarne kiseline pri sobnoj temperaturi. Korištenjem magnetske miješalice dobivena suspenzija se miješa daljnjih 3 sata pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 10,0 mL acetona te suši oko 17 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 12,7 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>8</sub> ( $\eta = 93 \%$ ) (tablica D1) u obliku igličastih kristala.

U bočicu od 10 mL odvaže se 30 – 40 mg MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM, suspendira u 5,0 mL nitrobenzena uz grijanje i otopi dodatkom 6,0 mL metanola uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM u obliku izduženih pločica (tablica D14).

### 3.3.7.2. *Postupak pripreve 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata (MMN FUM)*

U *n*-butil-acetatnu otopinu MMN pripremljenu na način opisan u odjeljku 3.2.1, doda se 2,7 g fumarne kiseline pri sobnoj temperaturi. Korištenjem magnetske miješalice dobivena suspenzija se miješa daljnjih 5 sata pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere dva puta s 15,0 mL *n*-butil-acetata te suši oko 15 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 10,4 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ( $\eta = 94 \%$ ) (tablica D1) u obliku praškastih kristala.

Jedinični kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su prekrizacijom sirovog materijala sljedećim postupkom: u bočicu od 10 mL odvaže se 40 mg MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM, suspendira u 5,0 mL *N,N*-dimetilacetamida uz grijanje i otopi dodatkom 4,4 mL metanola uz grijanje. Otopina se ostavi u zatvorenoj bočici pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala MMN FUM u obliku izduženih pločica (tablica D14).

## 3.4. **Kristalizacijski pokusi s pripremljenim solima 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (MMN)**

### 3.4.1. *Kristalizacije iz dvokomponentnih sustava tvar/otapalo*

U odgovarajuću bočicu odvaže se 30 do 40 mg odabrane soli memantina. Automatskom pipetom dodaje se po 0,50 mL odgovarajućeg otapala i sadržaj promućka. Ukoliko u bočici

zaostane neotopljeni uzorak, sadržaj se pomoću grijaće ploče zagrijava do vrelišta. Ukoliko se sadržaj ne otopi ni pri ukupnom dodatku volumena otapala od 5,00 mL, vruća suspenzija se profiltrira preko kapalice s vatom u drugu, čistu bočicu. Otopine se ostave u otvorenim bočicama da isparavaju pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala. Dobiveni kristali se profiltriraju i suše oko 2 sata pri 40 °C i 15 mbar (tablice od D3 do D6).

Na temelju provedenih pokusa dobiveni su okvirni podaci topljivosti tvari u pojedinim otapalima. Također, dobiven je uvid u uvjete nastajanja pojedinih soli i njenih formi ovisno o korištenom otapalu.

#### 3.4.2. Kristalizacije iz trokomponentnih sustava tvar/otapalo/antiotapalo

*Otapala* i *antiotapala* za svaku pojedinu sol memantina odabrana su na temelju rezultata topljivosti dobivenih u preliminarnom istraživanju dvokomponentnih sustava tvar/otapalo opisanih u odjeljku 3.4.1. Kao *otapalo*, služi otapalo u kojem je sol dobro topljiva pri sobnoj temperaturi, najčešće ako je utrošeno 0,5 mL otapala pri otapanju soli pri sobnoj temperaturi. Kao *antiotapalo* služi otapalo u kojem je sol slabo topljiva, najčešće ako je utrošeno 5,0 mL otapala pri otapanju soli pri sobnoj temperaturi.

a) U bočicu od 10 mL odvaži se 30 - 40 mg MMN soli te suspendira u 5,00 mL odabranog otapala (*antiotapalo*). Uz pomoć grijaće ploče sadržaj se zagrije do vrelišta i dodaje *otapalo* u obrocima od 0,10 mL uz grijanje do otapanja. Otopine se ostave u otvorenim bočicama da isparavaju pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala. Dobiveni kristali se profiltriraju i suše oko 2 sata pri 40 °C i 15 mbar.

b) U bočicu od 10 mL odvaži se 30 - 40 mg MMN soli i uz pomoć grijaće ploče otopi u određenoj količini odabranog *otapala*. Pripravljenoj otopini doda se naglo određena količina *antiotapala*. Otopine se ostave u otvorenim bočicama da isparavaju pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala. Dobiveni kristali se profiltriraju i suše oko 2 sata pri 40 °C i 15 mbar.

c) U bočicu od 10 mL odvaži se 30 – 40 mg MMN soli i uz pomoć grijaće ploče otopi u određenoj količini odabranog *otapala*. Pripravljena otopina doda se naglo u određenu količinu *antiotapala*. Otopine se ostave u otvorenim bočicama da isparavaju pri ambijentalnim uvjetima do pojave kristala. Dobiveni kristali se profiltriraju i suše oko 2 sata pri 40 °C i 15 mbar.

### 3.4.3. Pretvorbe među fazama

#### a) Pretvorbe među fazama izlaganjem parama odgovarajućeg otapala (starenje; eng. *aging*)

U Petrijevu zdjelicu stavi se određena količina uzorka i ostavi u eksikatoru napunjenom određenim otapalom pri sobnoj temperaturi tijekom određenog vremena.

#### b) Pretvorbe u suspenziji (eng. *slurry*)

U bočice od 10 mL odvaže se 40 do 50 mg uzorka, suspendira u 1,00 mL određenog otapala i ostavi na tresilici pri ambijentalnim uvjetima na 160 okretaja u minuti oko 20 sati.

#### c) Pretvorbe sušenjem

U Petrijevu zdjelicu stavi se određena količina uzorka i ostavi sušiti u sušnici pri povišenoj temperaturi i sniženom tlaku tijekom određenog vremena.

## 3.5. Određivanje topljivosti odabranih soli 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (MMN)

Kako je već bilo spomenuto u poglavlju 3.4 preliminarni podaci o topljivosti soli memantina pripremljenih u okviru ovog rada, dobiveni su temeljem kristalizacijskih pokusa iz dvokomponentnih sustava tvar/otapalo (odjeljak 3.4.1). Za preciznije određivanje topljivosti kao i za izradu krivulje topljivosti odabranih soli memantina korišten je Instrument Crystal16.<sup>125</sup> Radi se o paralelnom reaktoru za kristalizacije osmišljenom za različite studije kristalizacije poput: određivanja topljivosti i metastabilne zone, istraživanje polimorfije, rast jediničnih kristala i drugo. Sustav može sadržavati 16 (4x4) paralelnih pokusa kristalizacije u malom volumenu sa „online“ mjerenjima kristalizacije na temelju zamućenosti otopine.

U bočicama od 1,5 mL napravi se niz suspenzija odabranog uzorka različitih koncentracija u 1,00 mL odabranog otapala. Bočice se najprije zagrijavaju do određene temperature te potom hlade do 0 °C na prethodno definiran način. Tijek otapanja, odnosno kristalizacije prati se turbidimetrijski.

Pri određivanju topljivosti pri ambijentalnim uvjetima korišteno je osam različitih otapala. U bočicu od 1,5 mL doda se 1,00 mL odabranog otapala, u malim obrocima (3 - 5 mg) dodaje se uzorak te se nakon mućkanja sadržaja na automatskoj tresilici vizualno prati otapanje. Uzorak se dodaje do pojave suspenzije ili za dobro topljive uzorke, do ukupnog dodatka od 150 mg (tablice D30, D31 i D32).

### 3.6. Razvoj i optimiranje postupka pripreme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata forme 1 (MMN HSUL forme 1)

Nakon pripreme odabranih soli memantina i njihovih različitih kristalnih formi, međusobnom usporedbom dobivenih rezultata te usporedbom podataka i vlastitih mjerenja za MMN HCl, (trenutno dostupna sol u proizvodu na tržištu), o čemu je detaljnije opisano u odjeljcima 4.1 do 4.11, MMN HSUL odabran je kao najbolja alternativna sol. S ciljem dobivanja MMN HSUL u većem mjerilu, razvijen je i optimiran postupak pripreme MMN HSUL.

#### 3.6.1. Odabir otapala

Priprava MMN HSUL ispitana je u tri različite smjese otapala: toluen i aceton, toluen i 2-propanol te *n*-heptan i 2-propanol.

- a) Priprava MMN HSUL iz smjese toluen i aceton opisana je u odjeljku 3.3.1.1.
- b) Za pripravu MMN HSUL iz smjese toluena i 2-propanola, 20,0 g MMN HCl se otopi u 600,0 mL vode pri sobnoj temperaturi te doda 260,0 mL toluena. Korištenjem magnetske miješalice, nastaloj emulziji se podesi pH vrijednost tako da bude u području od 10,4 do 11,0 uz pomoć 40 % vodene otopine natrijevog hidroksida. Reakcijska smjesa se miješa daljnjih 15 minuta na ambijentalnim uvjetima te potom ostavi nekoliko minuta kako bi se formirali slojevi. Nastali slojevi se odijele. U toluensku otopinu MMN doda se 60,0 mL 2-propanola pri sobnoj temperaturi. Pripravljena smjesa se dobro izmješa te joj se pri sobnoj temperaturi dokapa 5,7 mL 96 % sumporne kiseline. Dobivena suspenzija se miješa daljnjih 2 sata pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere s 40,0 mL smjese toluena i 2-propanola u omjeru 9:1 te suši oko 18 sati pri 40 °C i 15 mbar. Ovim postupkom dobiveno je 21,6 g bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)HSO_4$  ( $\eta = 84 \%$ ).
- c) Za pripravu MMN HSUL iz smjese *n*-heptana i 2-propanola, 20,0 g MMN HCl se otopi u 600,0 mL vode pri sobnoj temperaturi te doda 200,0 mL *n*-heptana. Korištenjem magnetske miješalice, nastaloj emulziji se podesi pH vrijednost tako da bude u područje između 10,4 i 11,0 dodatkom 40 % vodene otopine natrijevog hidroksida. Reakcijska smjesa se miješa daljnjih 15 minuta pri ambijentalnim uvjetima te potom ostavi nekoliko minuta kako bi se formirali slojevi. Nastali slojevi se odijele. U *n*-heptansku otopinu MMN doda se 67,0 mL 2-propanola pri sobnoj temperaturi. Pripravljena smjesa se dobro izmješa te joj se pri sobnoj temperaturi dokapa 5,7 ml 96 % sumporne kiseline kroz 4 minute što odgovara brzini

dokapavanja od  $1,4 \text{ mL min}^{-1}$ . Dobivena suspenzija se miješa daljnjih 2 sata pri sobnoj temperaturi. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere s  $25,0 \text{ mL}$  smjese *n*-heptana i 2-propanola u omjeru 4:1 i s  $25,0 \text{ mL}$  *n*-heptana te suši oko 17 sati pri  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  i  $15 \text{ mbar}$ . Ovim postupkom dobiveno je  $24,1 \text{ g}$  bezbojnog sitnokristalnog produkta sastava  $(\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NH}_3)\text{HSO}_4$  ( $\eta = 94 \%$ ).

Uz navedeni postupak u kojem su *n*-heptan i 2-propanol korišteni u volumnom omjeru 3:1, provedeni su i postupci u kojem su *n*-heptan i 2-propanol korišteni u volumnim omjerima 1:1, 2:1 i 4:1.

Ispitana je i drukčija smjesa *n*-heptana i 2-propanola za pranje krutine u omjeru 9:1.

### 3.6.2. Odabir količine te uvjeta pri kojima se dodaje 96 % sumporna kiselina

Nakon odabira otapala, ispitano je koja je optimalna količina 96 % sumporne kiseline potrebna za pripravu MMN HSUL u što boljem iskorištenju. Pokusi su provedeni na način analogan onome koji je opisan u odjeljku 3.6.1.c. Ukupno govoreći, ispitan je utjecaj dodatka različitih molarnih ekvivalenata 96 % sumporne kiseline u rasponu od 0,96 do 1,46 molarnih ekvivalenata.

Nadalje ispitan je i utjecaj brzine dodavanja 96 % sumporne kiseline na pripravu MMN HSUL. Pokusi su provedeni na način opisan u odjeljku 3.6.1.c uz tri različite brzine dodavanja 96 % sumporne kiseline:  $11,4 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $1,4 \text{ mL min}^{-1}$  te  $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ .

Konačno, ispitan je i utjecaj temperature pri kojoj se dodaje 96 % sumporna kiselina na pripravu MMN HSUL. Pokusi su provedeni na način opisan u odjeljku 3.6.1.c, a dodavanje 96 % sumporne kiseline provedeno je pri tri različite temperature:  $2 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  i  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ .

### 3.6.3. Utjecaj atmosfere u kojoj se provodi sinteza

Osim na zraku, priprava MMN HSUL provedena je i u inertnoj atmosferi, u atmosferi dušika na način opisan u odjeljku 3.6.1.c.

### 3.6.4. Temperatura pri kojoj se vrši izolacija produkta

Ispitan je i utjecaj temperature pri kojoj se vrši izolacija MMN HSUL na kvalitetu i iskorištenje produkta. Pokus je proveden na način opisan u odjeljku 3.6.1.c pri čemu se nakon 2 sata miješanja dobivene suspenzije pri sobnoj temperaturi, dodatno miješa daljnjih 4 sata pri

temperaturi koja se kreće između 0 i 5 °C. Konačno, pri spomenutoj se temperaturi krutina odvoji od matičnice vakuum filtracijom.

### 3.6.5. Stabilnost *n*-heptanske otopine MMN

Stabilnost *n*-heptanske otopine MMN ispitana je pripremom MMN HSUL na način opisan u odjeljku 3.6.1.c iz *n*-heptanske otopine MMN koja je stajala 14 dana pri dvije različite temperature ( $\theta_1$  i  $\theta_2$ ) pri čemu vrijedi,  $2\text{ °C} < \theta_1 < 8\text{ °C}$  te  $20\text{ °C} < \theta_2 < 25\text{ °C}$ .

### 3.6.6. Trajanje miješanja pri temperaturi izolacije

Utjecaj trajanja miješanja pri temperaturi izolacije na pripremu MMN HSUL ispitana je na način opisan u odjeljku 3.6.1.c, gdje je dobivena suspenzija miješana 2 sata. Dodatno je proveden pokus gdje je suspenzija miješana 22 sata pri sobnoj temperaturi, nakon čega je pripravljena krutina odvojena od matičnice vakuum filtracijom.

## 3.7. Priprava 3,5-dimetiladamantana-1-ilamonijevog hidrogensulfata forme 1 (MMN HSUL forme 1) u uvećanom mjerilu

a) Mjerilo od 6 L; MMN, ekvivalentan 189,6 g MMN HCl dobiven u PLIVA Hrvatska d.o.o., otopi se u 1865 mL *n*-heptana pri temperaturi koja je između 20 i 25 °C. Dobivenoj otopini se doda 620 mL 2-PrOH i uz održavanje temperature maksimalno do 35 °C dokapa 53 mL 96% sumporne kiseline. Dobivena suspenzija se miješa daljnjih 2,5 sata pri temperaturi koja je između 20 i 25 °C. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere s 350 mL smjese *n*-heptana i 2-PrOH u omjeru 4:1 i s 250 mL *n*-heptana te suši oko 18 sati pri 40 °C i sniženom tlaku. Ovim postupkom dobiveno je 214,0 g sitnokristalnog bezbojnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)HSO_4$  ( $\eta = 87\%$ ).

b) Mjerilo od 1000 L; MMN, ekvivalentan 28,6 – 29,5 kg MMN HCl dobiven u PLIVA Hrvatska d.o.o., otopi se u 286 L tehničkog *n*-heptana pri temperaturi koja je između 20 i 25 °C. Dobivenoj otopini se doda 96 L tehničkog 2-PrOH i uz održavanje temperature maksimalno do 35 °C dokapa 8,4 L tehničke sumporne kiseline. Dobivena suspenzija se miješa daljnjih 2,5 sata pri temperaturi koja je između 20 i 25 °C. Nastala krutina se vakuum filtracijom odvoji od matičnice, ispere s 60 L smjese tehničkog *n*-heptana i tehničkog 2-PrOH u omjeru 4:1 i s 40 L tehničkog *n*-heptana te suši oko 16 sati pri 40 °C i sniženom tlaku. Ovim

postupkom dobiveno je 37,3 kg sitnokristalnog bezbojnog produkta sastava  $(C_{12}H_{19}NH_3)HSO_4$  ( $\eta = 88 \%$ ).

### 3.8. Instrumentne metode analize

#### 3.8.1. Difrakcijske metode strukturne analize

##### 3.8.1.1. Difrakcijski pokusi na praškastim uzorcima

Difraktogrami praškastih uzoraka prikupljeni su na rentgenskom difraktometru Philips X'Pert PRO X-ray, opremljen izvorom zračenja  $Cu K_{\alpha}$ ,  $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$  i detektorom X'Celerator ( $2,022^\circ 2\theta$ ) u Bragg-Brentano geometriji. Difraktogrami uzoraka na silicijskim pločicama snimani su u kutnom području  $2\theta$  od  $3$  do  $40^\circ$ , kontinuiranim snimanjem, brzinom od 37 sekundi po koraku te veličinom koraka  $2\theta$  od  $0,0167^\circ$ . Dobiveni difraktogrami analizirani su računalnim programom X'Pert Graphics.<sup>126</sup>

##### 3.8.1.2. Difrakcijski pokusi na jediničnom kristalu i postupak rješavanja i utočnjavanja strukture

Jedinični kristali pripremljenih spojeva pričvršćeni su na staklenu iglicu bezbojnim lakom za nokte ili učvršćeni unutar omče u smjesi s matičnicom i uljem Paratone. Uzorak je pričvršćen na goniometarsku glavu, a mjerenja provedena na: Oxford Xcalibur Gemini difraktometru opremljenim detektorom Sapphire CCD i grafitnim monokromatskim zračenjem  $CuK_{\alpha}$ ,  $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$  pri sobnoj temperaturi i na Oxford Xcalibur difraktometru opremljenim detektorom Sapphire 3 CCD i grafitnim monokromatskim zračenjem  $MoK_{\alpha}$ ,  $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$  u struji dušika na 150 K. Programi CrysAlis CCD i CrysAlis RED korišteni su za skupljanje podataka, utočnjavanje jedinične ćelije i redukciju podataka.<sup>127</sup> Za rješavanje i utočnjavanje kristalne i molekulske strukture korišten je programski paket SHELX (SHELXS i SHELXL) unutar programa WinGX.<sup>128-130</sup> Grafički prikazi struktura napravljeni su programima ORTEP-3, MERCURY i POV-RAY.<sup>130-132</sup>

#### 3.8.2. Metode termičke analize

##### 3.8.2.1. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (eng. differential scanning calorimetry, DSC) i termogravimetrijska analiza (eng. thermogravimetric analysis, TGA)

DSC mjerenja provedena su na kalorimetru TA Instruments Q 1000 u temperaturnom području  $25 - 300^\circ C$ . Oko 5 mg uzorka zatvoreno je u aluminijsku posudicu s probušenim poklopcem, a ista takva prazna posudica korištena je kao referentna posudica. TGA mjerenja



provedena su pomoću uređaja TA Instruments Hi-Res TGA 2950 u temperaturnom području 25 – 300 °C koristeći oko 10 mg uzorka u otvorenoj aluminijskoj posudici. Oba mjerenja provedena su brzinom grijanja od 10 °C min<sup>-1</sup>, u struji dušika od 50 mL min<sup>-1</sup>. Za obradu podataka korišteni je TA Instruments Universal Analysis 2000.<sup>133</sup>

### 3.8.3. Mikroskopija

#### 3.8.3.1. Optička mikroskopija

Uzorak je u tankom sloju nanesen na predmetno stakalce i prema potrebi suspendiran u silikonskom ulju. Slike uzoraka napravljene su korištenjem optičkih mikroskopa Olympus BX51 i Olympus XC-50, opremljeni polarizatorom spojeni na digitalnu kameru i analizirane u programu Linksys32 v.2.3.0.<sup>134</sup>

#### 3.8.3.2. Pretražna elektronska mikroskopija (eng. scanning electron microscopy, SEM)

Uzorak je pričvršćen na aluminijsku podlogu s dvostrukom ljepljivom trakom, obložen zlatom i sniman na mikroskopu Jeol JSM-5800 korištenjem računalnog programa Linksys, Oxford Instruments. Slike su analizirane pomoću programa IMQuant, Oxford Instruments.

### 3.8.4. Ostale metode

#### 3.8.4.1. Određivanje higroskopsnosti

Određivanje higroskopsnosti uzorka napravljeno je prema propisu navedenom u Europskoj Farmakopeji pri čemu je točno određena količina uzorka ostavljena stajati 24 sata u komori na 25 °C i 80 % relativne vlažnosti.<sup>54,135</sup> Nakon stajanja, uzorku je ponovno određena masa te se izračuna higroskopsnost (tablica D33).

#### 3.8.4.2. Određivanje masenog udjela vode u uzorcima Karl Fisherovom metodom

Maseni udio vode u uzorcima određen je upotrebom kulometra 831 KF Coulometer Metrohm, opremljen generatorskom elektrodom bez dijafragme (Metrohm) i indikatorskom, dvostrukom platinastom elektrodom (Metrohm) te napunjen CombiCoulomat otopinom. Za analizu je korišteno 50 do 100 mg uzorka.

#### 3.8.4.3. Potenciometrijske (volumetrijske) titracije

Sadržaj uzoraka određen je potenciometrijskim (volumetrijskim) titracijama na način da je 50 do 100 mg uzorka otopljeno u metanolu i titrirano pomoću titratora Metrohm 751 GPD

Titrimo uz korištenje pH elektrode LL SOLVOTRODE Metrohm i otopine natrijevog metoksida u toluenu približne koncentracije  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ . Za analizu podataka korišten je program Tiamo v.2.2.<sup>136</sup>

#### 3.8.4.4. Nuklearna magnetska rezonancija (eng. nuclear magnetic resonance, NMR)

NMR spektri ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ ) snimljeni su na spektrometru BRUKER Avance DRX 400 pri frekvenciji 400 MHz. Za otapanje uzoraka korišten je deuterirani dimetil sulfoksid,  $\text{DMSO-}d_6$ .

#### 3.8.4.5. Mjerenje refleksije fokusiranog snopa (eng. focused beam reflectance measurement, FBRM)

Kristalizacijski pokusi praćeni su uz pomoć FBRM sonde koja je uronjena u zonu turbulencije suspenzije i mjerenja snimana svakih 10 sekundi korištenjem programa Lasentec FBRM Control Interface, v.6.7.0. Dobiveni podaci analizirani su programom Lasentec FBRM Data Review v.6.7.0.<sup>137</sup>

#### 3.8.4.6. Plinska kromatografija (eng. gas chromatography, GC)

Ostatna otapala u uzorku određena su analizom para iznad otopine uzorka u dimetil sulfoksidu na instrumentu za plinsku kromatografiju na kapilarnoj koloni duljine 30 m i unutarnjeg promjera 0,53 mm uz plameno-ionizacijski detektor. Početna temperatura kolone iznosi  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , a završna temperatura  $240 \text{ }^\circ\text{C}$ . Kao plin nosilac korištena je struja dušika brzine oko  $4 \text{ mL min}^{-1}$ .

#### 3.8.4.7. Infracrvena spektroskopija (eng. infrared spectroscopy, IR)

Infracrveni spektri snimljeni su na instrumentu Perkin Elmer, Spectrum Two u rasponu od  $4500 \text{ cm}^{-1}$  do  $450 \text{ cm}^{-1}$  uz razlučenje od  $2 \text{ cm}^{-1}$  metodom prigušene totalne refleksije (eng. attenuated total reflectance, ATR). Dobiveni podaci analizirani su programom Spekwin32.<sup>138</sup>

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Priprava soli 3,5-dimetiladamantan-1-ilamina (memantina, MMN)

Kako je već bilo riječi u prethodnim poglavljima, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamin ili memantin (MMN) se u reakcijama s kiselinama ponaša kao tipična baza. Ovisno o odabranim reakcijskim uvjetima, ali i o prirodi same kiseline (monoprotonska ili poliprotonska kiselina) može tvoriti čitav niz soli. Pregled soli memantina pripremljenih u okviru ovog rada dan je u tablici 11.

Tablica 11. Pregled soli memantina pripremljenih u okviru ovog rada.

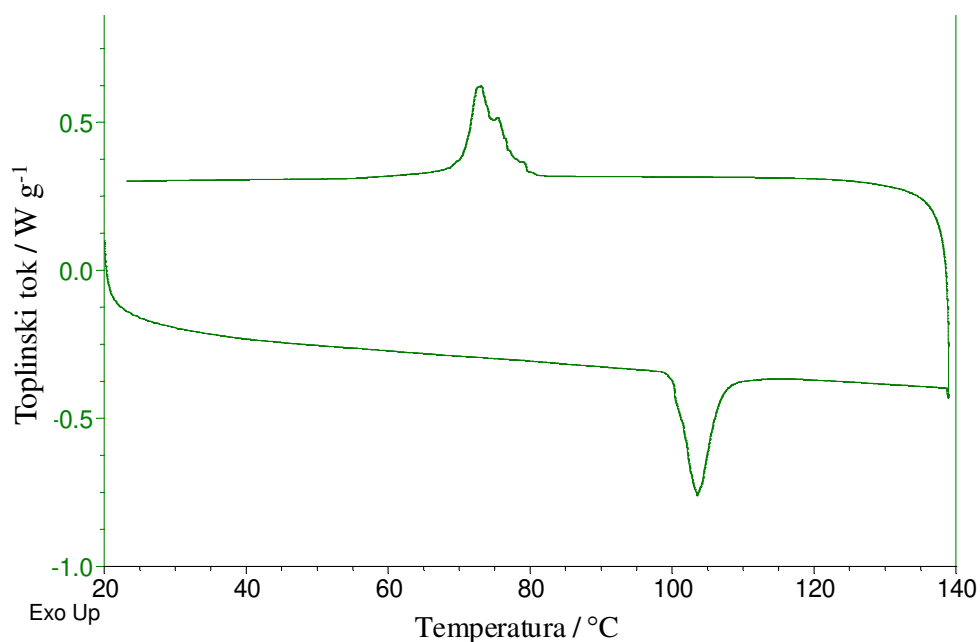
IME SOLI	OZNAKA SOLI	FORMULA SOLI	$M_r$ (SOL)	SUSTAV OTAPALA U KOJEM JE SOL PRIPRAVLJENA	$\eta$
3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogensulfat	MMN HSUL	$(C_{12}H_{19}NH_3)HSO_4$	277,38	toluen/aceton	96 %
				toluen/2-PrOH	84 %
				<i>n</i> -heptan/2-PrOH	94 %
3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev sulfat	MMN SUL	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2SO_4$	375,46	<i>n</i> -heptan/2-PrOH	84 %
3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev dihidrogenfosfat	MMN DHP	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2H_2PO_4$	277,29	toluen/aceton	96 %
3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev mesilat	MMN MES	$(C_{12}H_{19}NH_3)CH_3SO_3$	275,10	toluen/aceton	92 %
3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogenmaleat	MMN HMAL	$(C_{12}H_{19}NH_3)C_4H_3O_4$	295,37	toluen/aceton	84 %
3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev maleat	MMN MAL	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2C_4H_2O_4$	474,67	<i>n</i> -butil-acetat	94 %
3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev fumarat	MMN FUM	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2C_4H_2O_4$	474,67	<i>n</i> -butil-acetat	94 %
kokristal 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata i fumarne kiseline	kokristal MMN FUM · H <sub>2</sub> FUM	$(C_{12}H_{19}NH_3)_2C_8H_6O_8$	590,75	toluen/aceton	93 %

#### 4.2. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogensulfat (MMN HSUL) i 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev sulfat (MMN SUL)

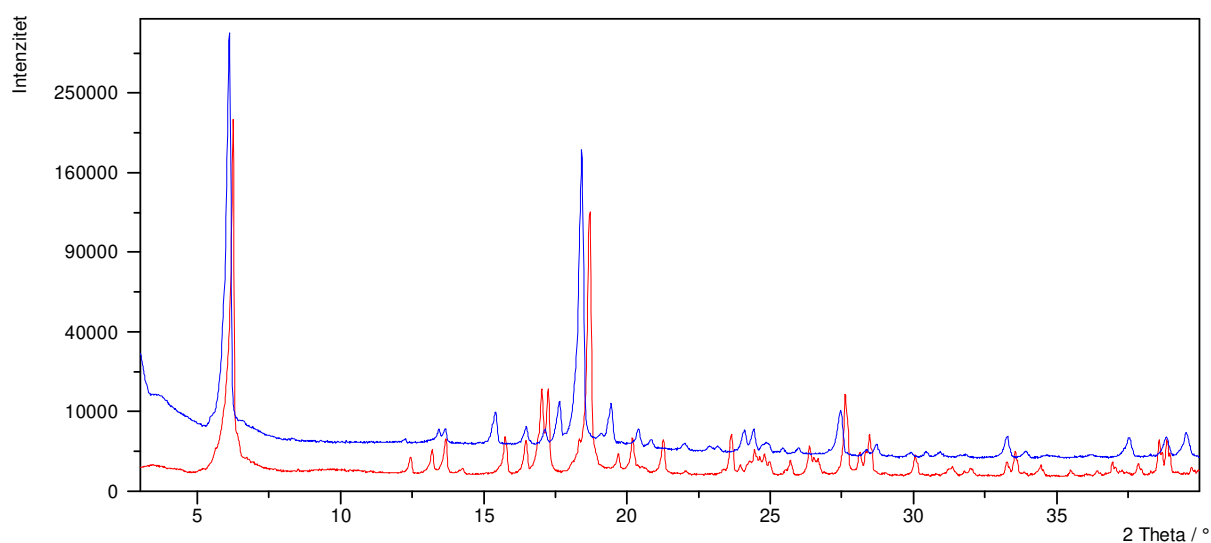
Za pripravu MMN HSUL molarni omjer baze i kiseline bio je 1 : 1. Kiselo-baznom titracijom provedenom na način opisan u odjeljku 3.8.4.3 određen je maseni udio 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata koji je potvrdio da pripremljeni uzorak odgovara hidrogensulfatnoj soli memantina (tablica D2).

Direktna kristalizacija iz reakcijske smjese, provedena iz tri različita sustava otapala o čemu je bilo riječi u odjeljku 3.6.1 kao i ostali kristalizacijski pokusi opisani u poglavlju 3.4 uvijek su dali istu formu soli hidrogensulfatne soli memantina koja će se za potrebe ove diskusije navoditi kao forma 1 (slika 23b). Ipak rezultati termičke analize upućivali su na postojanje dodatne faze, koja će se za potrebe ove diskusije navoditi kao forma 2 (slika D1). Naime, DSC krivulja kružnog eksperimenta u kojem je MMN HSUL forma 1 zagrijana u kontroliranim uvjetima (brzina grijanja od  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , struja dušika  $50\text{ ml min}^{-1}$ ) otkriva endotermni događaj pri otprilike  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  (slika 23a). Također tijekom hlađenja uočava se egzotermni događaj, ovog puta pri otprilike  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ukupno gledajući, može se zaključiti kako zagrijavanjem forme 1 nastaje metastabilna forma 2, koja hlađenjem ponovno prelazi u formu 1. Ovakav zaključak potkrijepljuju i rezultati termogravimetrijske analize, koji ukazuju da materijal ne podliježe razlaganju i gubitku mase prije otprilike  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  (slika D2). Kako bi se nedvojbeno utvrdilo postoji li zaista nova faza u navedenom temperaturnom području, te je li ona kristalna ili amorfn, proveden je i dodatni difrakcijski eksperiment u kojem je praškasti uzorak MMN HSUL forme 1 zagrijan u kapilari do  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Materijalu je prikupljen difraktogram te uspoređen s onim polaznog materijala (slika 23b). Usporedba difraktograma praha materijala pri  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  i  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$  otkriva jasne razlike te ukazuje da se uistinu radi o kristalnom materijalu.

IR spektar MMN HSUL forme 1 (slika D22) pokazuje karakterističnu široku vrpcu pri otprilike  $2900\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara N–H vibracijama istezanja protonirane amino grupe kationa MMN, a navedena vrpca poklapa se i s C–H vibracijama istezanja adamantanske jezgre.<sup>139</sup> Vrpca prisutna pri  $1170\text{ cm}^{-1}$  može se pripisati simetričnom i asimetričnom istezanju S–O veza, dok se vrpca pri  $860\text{ cm}^{-1}$  povezuje se s vibracijama istezanja S–OH funkcijske grupe.<sup>139</sup> Uočava se i vrpca pri  $570\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara vibracijama savijanja  $\text{HSO}_4$  grupe.<sup>139</sup>



a)



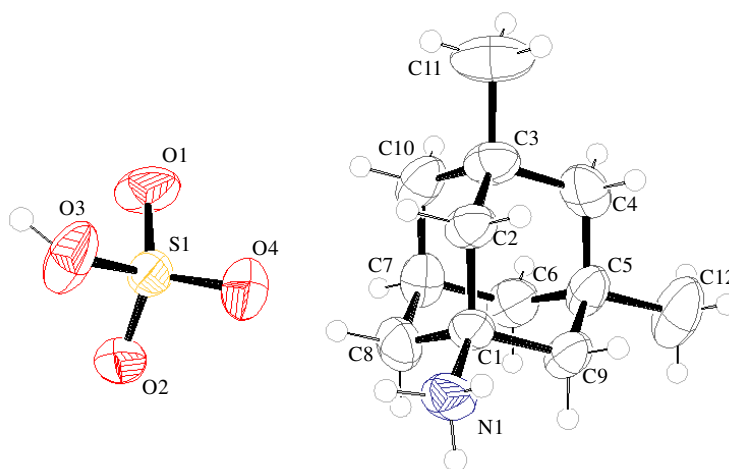
b)

Slika 23. a) DSC krivulja kružnog eksperimenta MMN HSUL, gdje je forma 1 MMN HSUL zagrijana od 25 °C do 140 °C (brzina grijanja 10 °C min<sup>-1</sup>, struja dušika protoka 50 mL min<sup>-1</sup>). Dobiveni materijal je ohlađen sa 140 °C na 25 °C u kontroliranim uvjetima (brzina hlađenja 10 °C min<sup>-1</sup>, struja dušika protoka 50 mL min<sup>-1</sup>).

b) Usporedba difraktograma MMN HSUL forme 1 (crveno) i forme 2 (plavo).

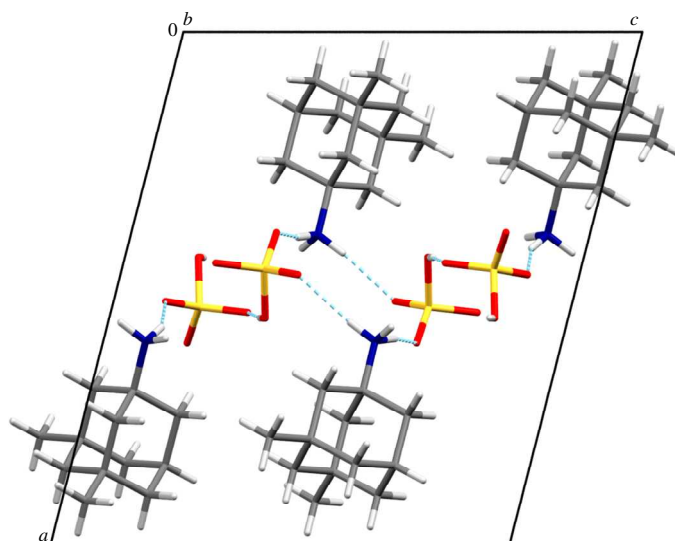
S obzirom na prethodno razmatranje, jedinične kristale MMN HSUL bilo je moguće pripremiti samo za formu stabilnu pri sobnoj temperaturi (forme 1). Kristali zadovoljavajuće kvalitete pripremljeni su sporim hlađenjem i isparavanjem iz otopine metil-*isobutil* ketona i

etanola u omjeru 3:1 (tablica D7). Spoj kristalizira u monoklinskom sustavu, prostornoj grupi  $P 2_1/c$ , s četiri formulske jedinice u jediničnoj ćeliji (tablice D7 i D15). Radi se o slojevitoj strukturi u kojoj se uočavaju naizmjenični slojevi hidrogensulfatnih aniona i kationa memantina pri čemu je kation memantina orijentiran tako da se svojom protoniranom amino skupinom usmjerava prema hidrogensulfatnim anionima (slike 24, 25 i 26, D37). Detaljno razmatrajući vodikove veze raspoznaje se kako je  $-\text{NH}_3^+$  grupa kationa memantina povezana vodikovim vezama s tri hidrogensulfatna aniona, dok je svaki hidrogensulfatni anion povezan s tri amino grupe memantina i druga dva hidrogensulfatna aniona. Na taj način stvara se kompleksna mreža vodikovih veza u kojoj se prepoznaje karakteristični motiv prstena  $R_4^4(12)$  koji tvore dva hidrogensulfatna aniona premoštena jednom  $-\text{NH}_3^+$  grupom kationa memantina pri čemu hidrogensulfatni anion sudjeluje s dva kisikova atoma u prstenu, te motiv prstena  $R_4^2(8)$  koji također čine dva hidrogensulfatna aniona premoštena jednom  $-\text{NH}_3^+$  grupom kationa memantina, no u ovoj situaciji hidrogensulfatni anion sudjeluje samo s jednim atomom kisika u prstenu (slika 26).<sup>110-114</sup> U oba slučaja  $-\text{NH}_3^+$  grupa kationa memantina djeluje kao donator, a kisikovi atomi hidrogensulfatnog aniona kao akceptori vodikove veze.

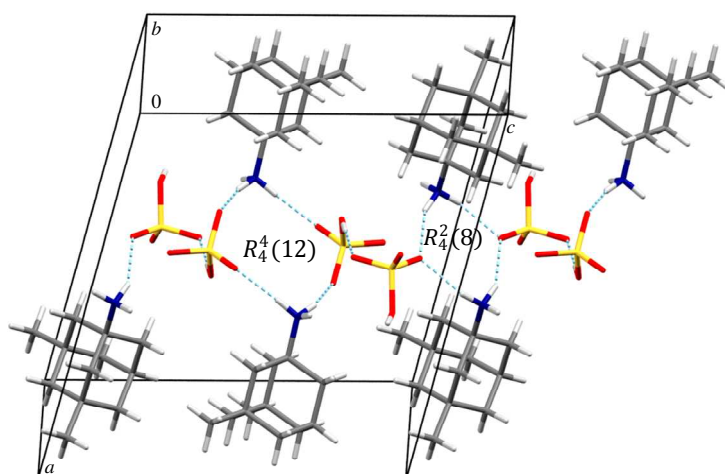


Slika 24. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN HSUL forme 1.

Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.



Slika 25. Projekcija kristalne strukture MMN HSUL forme 1 duž kristalografske *b*-osi.



Slika 26. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN HSUL forme 1.

Konačno je važno istaknuti kako otapanjem MMN HSUL u vodi kristalizira MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O, o čemu će biti više riječi u nastavku teksta.

Za pripravu MMN SUL molarni omjer baze i kiseline bio je 2 : 1. Maseni udio 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog sulfata u pripremljenom uzorku, koji je određen kiselo-baznom titracijom provedenom na način opisan u odjeljku 3.8.4.3, potvrdio je da je pripremljeni uzorak doista sulfatna sol memantina (tablica D2).

Tijekom kristalizacijskih pokusa opisanih u poglavlju 3.4 pokazalo se kako MMN SUL ima izrazitu sklonost stvaranju solvata što dokazuju hidrat sulfatne soli memantina, MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O, i solvat 2-propanola, MMN SUL · 3 (2-PrOH).

Termogravimetrijska analiza MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O otkriva dva uzastopna koraka gubitka mase koji se zbivaju u temperaturnom području od 25 °C do 115 °C, a pripisuju se izlasku kristalne vode (slika D3). Prvi korak dehidracije, koji se zbiva između 25 °C i 90 °C, uključuje gubitak mase od približno 10 %, dok drugi korak koji se događa između 90 °C i 115 °C pokazuje gubitak mase oko 5,3 %. S obzirom da se spomenuti događaji zbivaju jedan za drugim teško je jednoznačno reći koliko vode u kojem koraku izlazi, no gledajući kumulativno, može se reći da gubici mase odgovaraju izlazu četiri molekula vode. Nakon spomenutih 115 °C, na TG krivulji se ne uočava daljnji gubitak mase sve do 150 °C nakon čega započinje razlaganje soli.

Na temelju rezultata termogravimetrijske analize pokušalo se sušenjem uzoraka prirediti niže hidrate ove soli. I uistinu, grijanjem uzoraka na temperaturama između 25 °C i 110 °C moguće je djelomično ukloniti vodu, pri čemu je udio vode u uzorcima priređenima na ovaj način varirao između 2,3 i 14,8 %. Nadalje, grijanjem uzorka između 110 i 120 °C dobiva se nestehiometrijski hidrat s udjelima vode između 0,7 i 0,8 %. Važno je naglasiti kako sušeni uzorci različitog udjela vode stajanjem već i pri ambijentalnim uvjetima, a pogotovo pri uvjetima visoke vlažnosti udjelima vlage prelaze natrag u MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O.

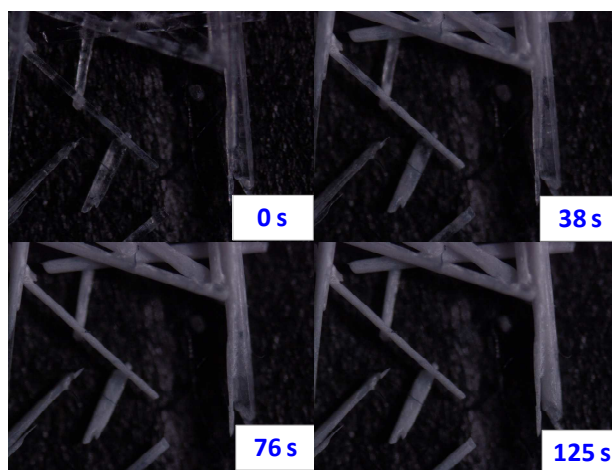
Za MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O snimljen je i IR spektar (slika D23) u kojem se opaža široka vrpca pri 3380 cm<sup>-1</sup> tipična za hidrate.<sup>139</sup> Pri otprilike 2910 cm<sup>-1</sup> uočava se široka vrpca N–H istezanja – NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupe kationa MMN koja se poklapa i s C–H vibracijama istezanja adamantanske jezgre.<sup>139</sup> Slično kao i kod hidrogensulfatne soli, uočava se vrpca simetričnog i asimetričnog istezanja S–O veza koja se nalazi pri oko 1070 cm<sup>-1</sup> te savijanje SO<sub>3</sub> skupine pri oko 620 cm<sup>-1</sup>.

Drugi spomenuti solvat sulfatne soli memantina, MMN SUL · 3 (2-PrOH) pripremljen je prekrizacijom MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O iz 2-propanola opisanom u odjeljku 3.3.2.2. Taj je spoj izrazito nestabilan na zraku pri čemu se promjene u izgledu kristala pri izlaganju ambijentalnim uvjetima opažaju gotovo trenutno (slika 27). Termogravimetrijska analiza MMN SUL · 3 (2-PrOH) otkriva temperaturni događaj povezan s gubitkom mase od oko 28 %, koji se odvija u temperaturnom području između 25 i 105 °C, a upućuje na mogući



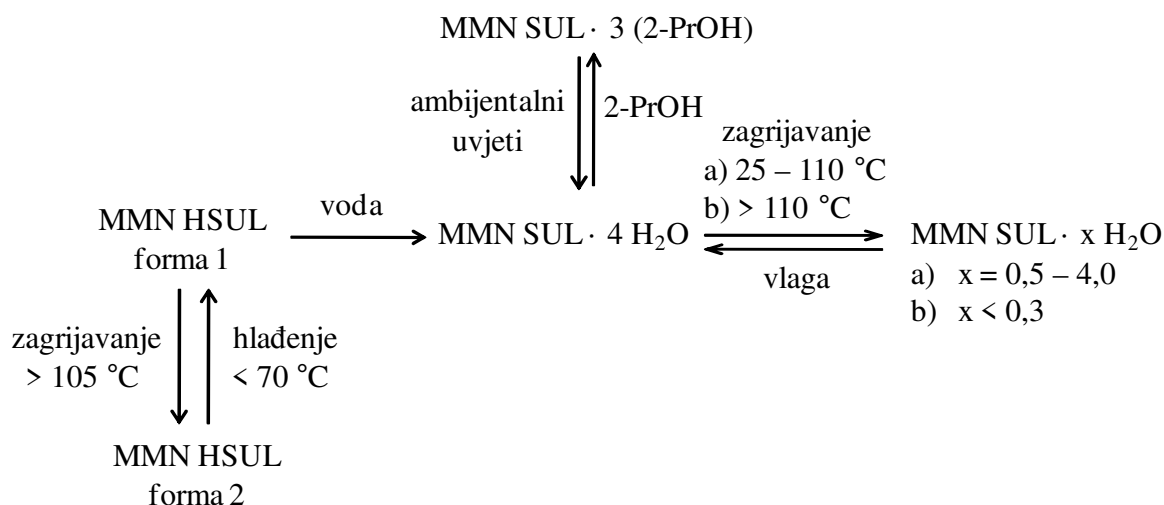
“izlazak” otapala (slika D4). Ovdje treba naglasiti kako duljim izlaganjem MMN SUL · 3 (2-PrOH) ambijentalnim uvjetima, uzorak postepeno prelazi u MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O.

U IR spektru MMN SUL · 3 (2-PrOH) (slika D24) se nalazi široka vrpca pri približno 3240 cm<sup>-1</sup> koja potvrđuje prisustvo 2-propanola jer se pripisuje istežanju OH skupine 2-propanola.<sup>139</sup> I u ovoj soli memantina opaža se karakteristična vrpca N–H istežanja –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupe kationa MMN pri oko 2900 cm<sup>-1</sup> preklopljena s C–H vibracijama istežanja adamantanske okosnice.<sup>139</sup> C–O istežanja iz molekula 2-propanola poklapaju se s vrpcom simetričnog i asimetričnog istežanja S–O veza pri oko 1060 cm<sup>-1</sup>, a vrpca koja se povezuje s vibracijom savijanje SO<sub>4</sub> skupine opaža se pri oko 615 cm<sup>-1</sup>.<sup>139</sup>



Slika 27. Kristali MMN SUL · 3 (2-PrOH), promatrani mikroskopom, tijekom izlaganja ambijentalnim uvjetima. Vrijeme je iskazano u sekundama.

Konačno, valja se osvrnuti i na prethodnu spomenutu transformaciju MMN HSUL forme 1 u vodi. Naime iz vodene otopine pripravljene otapanjem spomenutog spoja kristalizira MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O. Ova kao i ostale transformacije MMN HSUL i MMN SUL soli opisane u ovom poglavlju prikazane su na shemi 7.

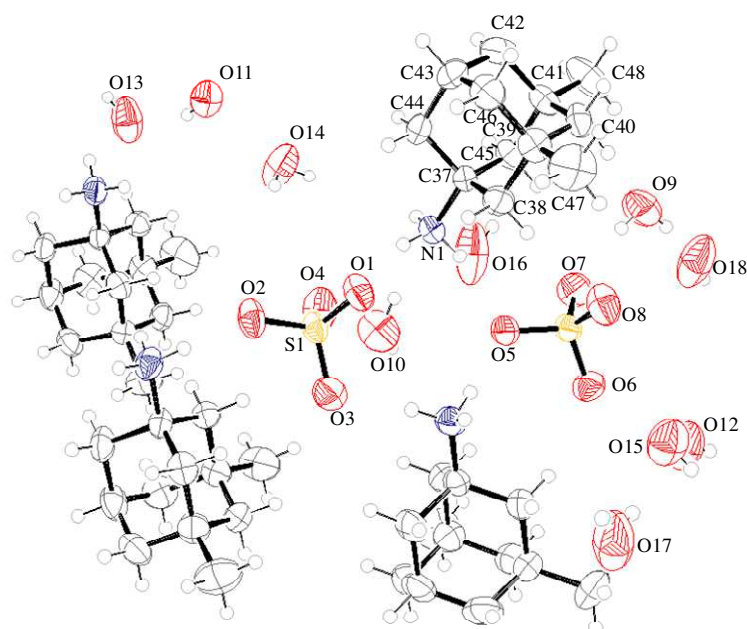


Shema 7. Transformacije kristalnih formi MMN SUL i MMN HSUL.

MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O kristalizira u monoklinskom sustavu, *P 2/n* prostornoj grupi s osam formulskih jedinki u jediničnoj ćeliji (tablice D8 i D16). Radi se o slojevitoj strukturi, u kojoj se opažaju naizmjenični „dvostruki” slojevi kationa i aniona (slika 28, 29 i 30). U takvom se dvostrukom sloju kationi memantina usmjeravaju s –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupom prema hidrofilnim dijelovima strukture, odnosno slojevima izgrađenih od sulfatnih aniona i molekula vode gdje slojeve čine „sendviči“, u čijem su vanjskom sloju kationi memantina okrenuti protoniranom amino grupom u unutrašnjost koju čine kanalno raspoređeni anioni sulfata i molekule vode. Kationi MMN svojom –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupom djeluju kao donori triju vodikovih veza, jednu s molekulom vode kao akceptorom vodikove veze te dvije gdje su akseptori vodikove veze kisikovi atomi dvaju različita sulfata pri čemu se uočava se da je jedna vodikova veza –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupe kationa memantina bifurkirana između dva akceptora, dva kisikova atoma jednog aniona sulfata.<sup>140</sup> Veliki broj molekula vode doprinosi izuzetno složenoj mreži vodikovih veza, u kojoj se može uočiti specifičan motiv tj. molekule vode gotovo da prave lanac vodikovih veza.<sup>110-114</sup> „Karike“ lanca su šesteročlani gotovo planarni prstenovi koje čine molekule vode koje simultano djeluju kao donori i akseptori vodikove veze, a „karike“ lanca međusobno su zakrenute za otprilike 113 ° tj. 67 ° (slika 30).

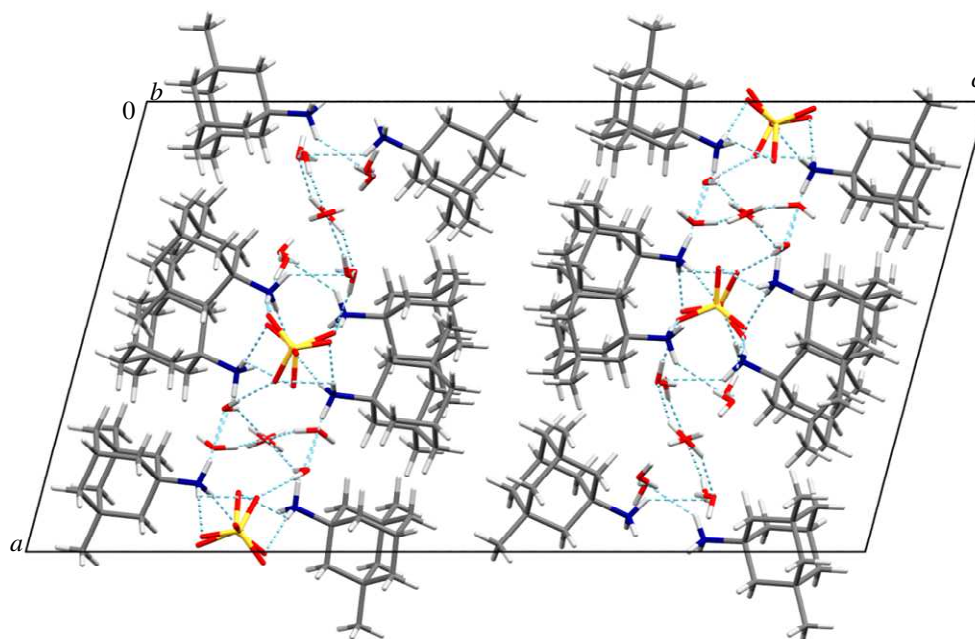
MMN SUL · 3 (2-PrOH) kristalizira u monoklinskom sustavu, *P 2<sub>1</sub>/n* prostornoj grupi, s četiri formulске jedinice u jediničnoj ćeliji (tablice D8 i D17). U kristalnoj se strukturi spoja sulfatni anioni slažu u nizove duž kristalografske *a*-osi, dok se oko njih raspoređuju kationi

memantina (slike 31, 32 i 33). U šupljine, točnije kanale, nastale takvim slaganjem kationa i aniona u čvrstom stanju smještaju se molekule 2-PrOH. Kationi MMN preko  $-\text{NH}_3^+$  grupe ostvaruju tri donorske vodikove veze, pri čemu su akceptori vodikove veze kisikov atom molekule 2-PrOH i kisikov atom dvaju sulfata s time da je jedna donorska vodikova veza bifurkirana na dva kisikova atoma jednog sulfata.<sup>140</sup> Na taj način, vodikove veze između dviju  $-\text{NH}_3^+$  grupa dvaju kationa memantina i dva sulfata čine karakterističan motiv  $R_4^2(8)$  odnosno  $R_4^4(12)$  prsten (slika 33).<sup>110-114</sup> Dvije molekule 2-PrOH ostvaruju i jednu donorsku vodikovu vezu s atomom kisika sulfatnog aniona, dok jedna molekula 2-PrOH ne sudjeluje u stvaranju vodikovih veza. Smještanje molekula 2-PrOH u kanale u strukturi MMN SUL · 3 (2-PrOH) može se dovesti u vezu s opaženom nestabilnosti spoja.

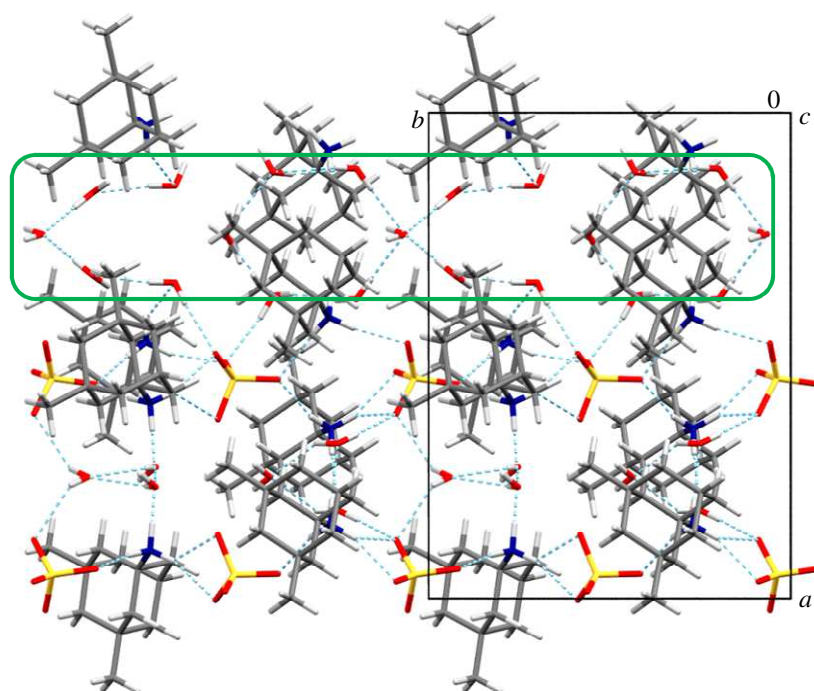


Slika 28. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O. Četiri molekule vode nalaze se na specijalnom položaju zbog čega su prikazane samo s jednim atomom vodika.

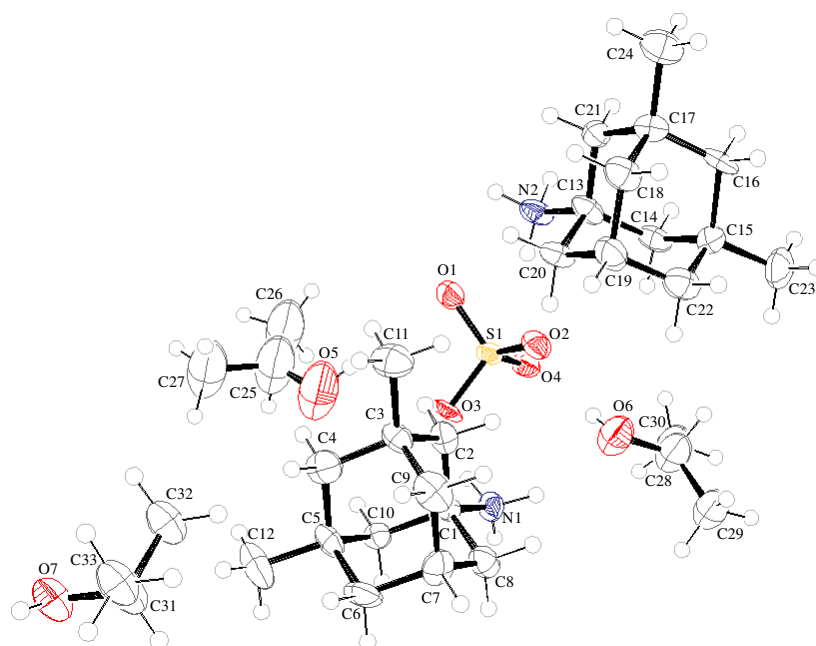
Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće. Za jasniji prikaz, označeni su atomi samo jednog MMN kationa.



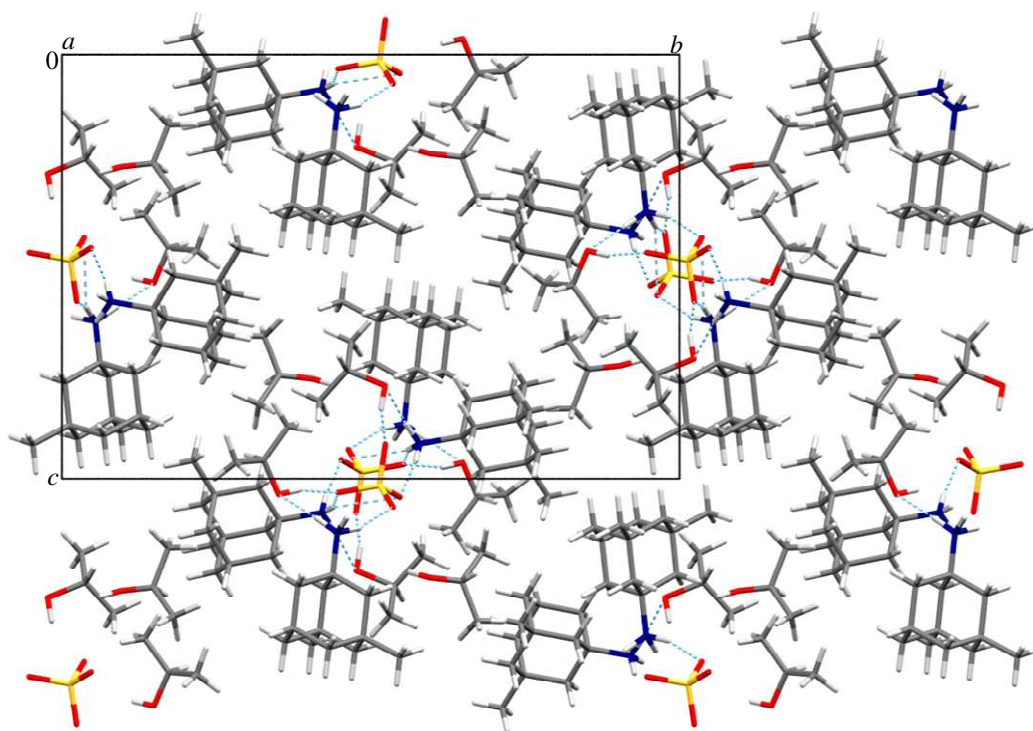
Slika 29. Projekcija kristalne strukture MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O duž kristalografske *b*-osi.



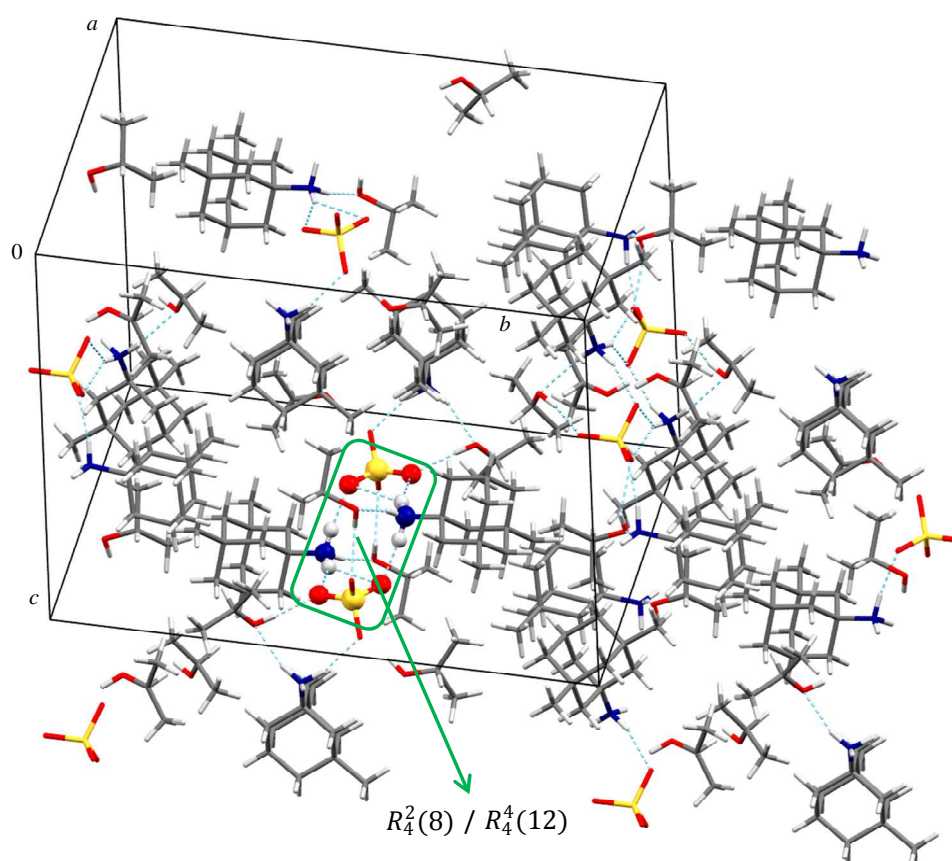
Slika 30. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O.



Slika 31. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN SUL · 3 (2-PrOH).  
Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.



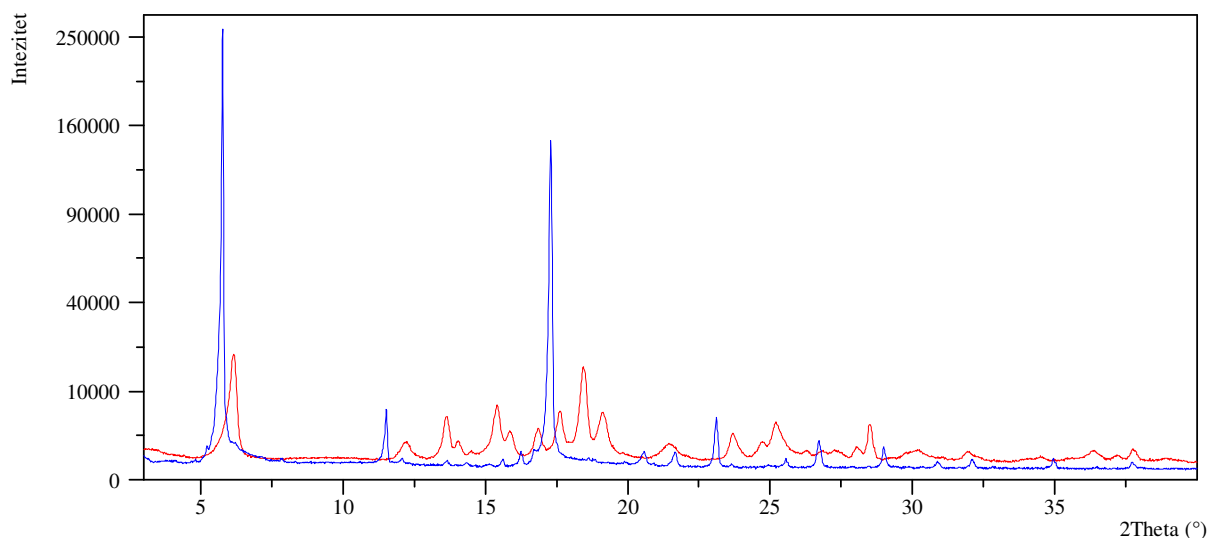
Slika 32. Projekcija kristalne strukture MMN SUL · 3 (2-PrOH) duž kristalografske *a*-osi.



Slika 33. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN SUL · 3 (2-PrOH).

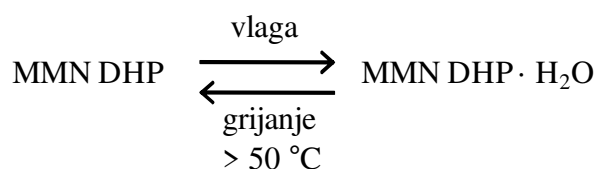
### 4.3. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev dihidrogenfosfat (MMN DHP)

Za pripravu soli MMN DHP korišten je molarni omjer baze i kiseline 1 : 1. Rezultat kiselo-bazne titracije pripremljenog uzorka (provedena prema opisu u odjeljku 3.8.4.3) kojim je određen maseni udio 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog dihidrogenfosfata u uzorku, pokazao je da pripremljeni uzorak odgovara dihidrogenfosfatnoj soli memantina (tablica D2) Direktna kristalizacija iz reakcijske smjese, čiji je postupak opisan u odjeljku 3.3.3.1, provedena iz smjese toluena i acetona rezultirala je pripremom kristalne forme MMN DHP (slika 34). Kristalizacijskim pokusima opisanima u poglavlju 3.4 pripremljena je još jedna kristalna forma, MMN DHP · H<sub>2</sub>O (odjeljak 3.3.3.2, slika 34).



Slika 34. Usporedba difraktograma MMN DHP forme 1 (crveno) i MMN DHP · H<sub>2</sub>O, forme 2 (plavo).

Metodama termičke analize jednostavno je bilo utvrditi vezu između MMN DHP i MMN DHP · H<sub>2</sub>O (slike D5 i D6). DSC krivulja MMN DHP · H<sub>2</sub>O otkriva dva preklapljena endotermna signala u temperaturnom području između 50 i 120 °C. U istom temperaturnom području na termogravimetrijskoj krivulji uočava se gubitak mase oko 5,9 %, što odgovara gubitku jedne molekule vode. U temperaturnom području iznad ≈ 120 °C, termogrami oba uzorka (MMN DHP i MMN DHP · H<sub>2</sub>O) gotovo su identični, a na njima se ističe endotermni događaj pri oko 225 °C, koji se povezuje s razlaganjem soli. Uzevši u obzir prethodna razmatranja, može se zaključiti kako zagrijavanjem MMN DHP · H<sub>2</sub>O iznad 50 °C dolazi do transformacije u MMN DHP, što je potvrđeno i difrakcijom na praškastom uzorku (slika 34). Kako bi se ispitalo je li transformacija reverzibilna, uzorak MMN DHP se izložio uvjetima vlage od 100 % relativne vlažnosti u trajanju od 24 sata. Difraktogrami praškastog materijala pripremljenog na opisan način i uzorka MMN DHP · H<sub>2</sub>O su identični što potvrđuje reverzibilnost opisane transformacije (shema 8).

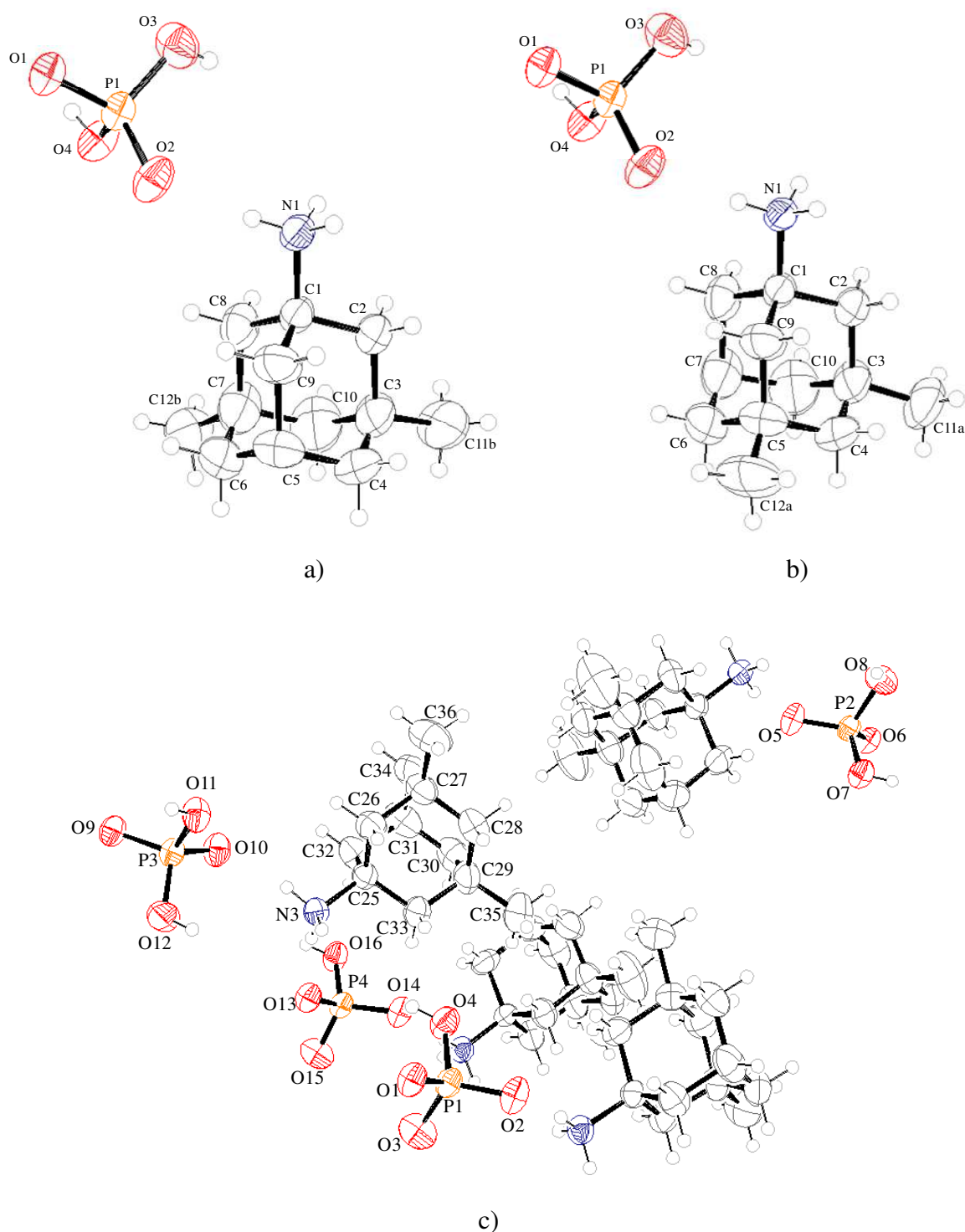


Shema 8. Transformacije kristalnih formi MMN DHP.

IR spektri MMN DHP i MMN DHP · H<sub>2</sub>O (slike D25 i D26) se dobrim dijelom podudaraju pa tako oba spektra imaju široku vrpca pri oko 2910 cm<sup>-1</sup> koja se može pripisati N–H istezanjima –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupe kationa MMN i C–H vibracijama istezanja adamantanske okosnice, a na oko 2700 cm<sup>-1</sup> u spektrima se zapaža vrlo slaba široka vrpca koja odgovara P–OH istezanjima.<sup>139</sup> Vrpce pri 1035 cm<sup>-1</sup> i 955 cm<sup>-1</sup> za MMN DHP, odnosno pri 1000 cm<sup>-1</sup> i 955 cm<sup>-1</sup> za MMN DHP · H<sub>2</sub>O mogu se pripisati P–O istezanjima, a vrpca pri oko 520 cm<sup>-1</sup> odgovara vibracijama savijanja PO<sub>4</sub> dijela.<sup>139</sup> Karakteristično za hidrate, u IR spektru MMN DHP · H<sub>2</sub>O opaža se i široka vrpca istezanja O–H molekula vode između 3600 i 3300 cm<sup>-1</sup>.

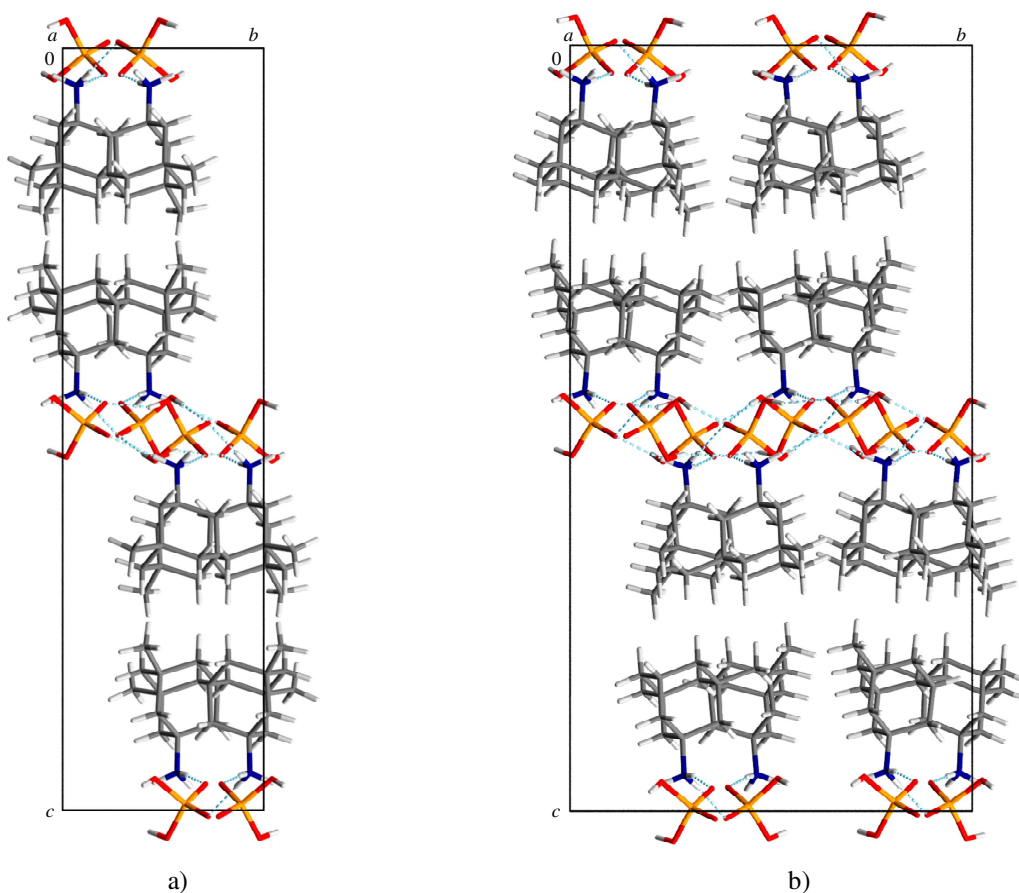
Prekristalizacijom MMN DHP u etanolu te sporim hlađenjem otopine pripremljeni su jedinični kristali kvalitete dovoljne za strukturalna istraživanja (tablice D9, D18 i D19). Jedinični kristali MMN DHP · H<sub>2</sub>O pripremljeni su prekristalizacijom MMN DHP u 96 % etanolu te sporim hlađenjem priređene otopine (tablica D7). I jednom i drugom spoju određene su kristalna i molekulska struktura (slike 35, 36, 37, 38, 39 i 40), pri čemu se struktura MMN DHP pokazala kao vrlo zanimljiv kristalografski slučaj. Uočeno je da difrakcijska slika dobivena pri sobnoj temperaturi uz jake pikove sadrži i slabije *hkl* reflekske za koje vrijedi  $k = 2n + 1$ . Struktura se može riješiti i utočniti na dva načina: uzimanjem u obzir skupa podataka sa i bez slabih refleksa. Odbacivanjem slabih refleksa struktura se može riješiti kao uprosječna struktura (podstruktura), a upotrebom cijelog seta podataka dobiva se tzv. superstruktura (slika 36b). Obje strukture pripadaju monoklinskom sustavu, no, podstruktura pripada prostornoj grupi  $I 2/c$ , a superstruktura prostornoj grupi  $P 2_1/c$  (tablica D9). Superstruktura sadrži šesnaest, a podstruktura osam formulskih jedinki memantina dihidrogenfosfata. Obje strukture karakterizira kompleksna mreža vodikovih veza između dihidrogenfosfatnih aniona i protonirane amino grupe kationa memantina između kojih se mogu prepoznati karakteristični motivi,  $R_2^2(8)$  prsten, homosinton dihidrogenfosfatnih dimera pri čemu su dihidrogenfosfatni anioni istovremeno donori i akceptori vodikove veze i  $R_4^2(8)$  prsten između dvije protonirane amino grupe kationa memantina, donora vodikove veze i dva dihidrogenfosfata koji su akceptori vodikove veze (slika 37).<sup>110-114</sup>



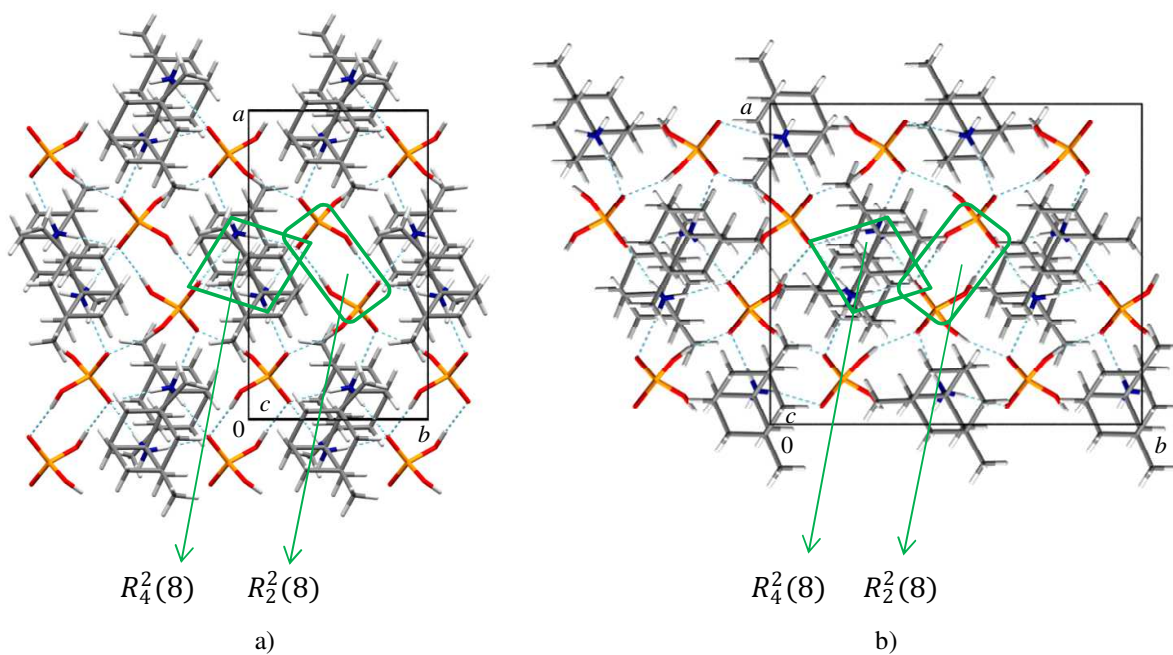


Slika 35. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN DHP: a) podstruktura (metil grupe atoma C11a, C11b, C12a i C12b se nalaze u neredu), oko 53 % zastupljena komponentna, b) podstruktura (metil grupe C11a, C11b, C12a i C12b se nalaze u neredu), oko 47 % zastupljena komponentna i c) superstruktura.

Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće. Za jasniji prikaz, označeni su atomi samo jednog MMN kationa.

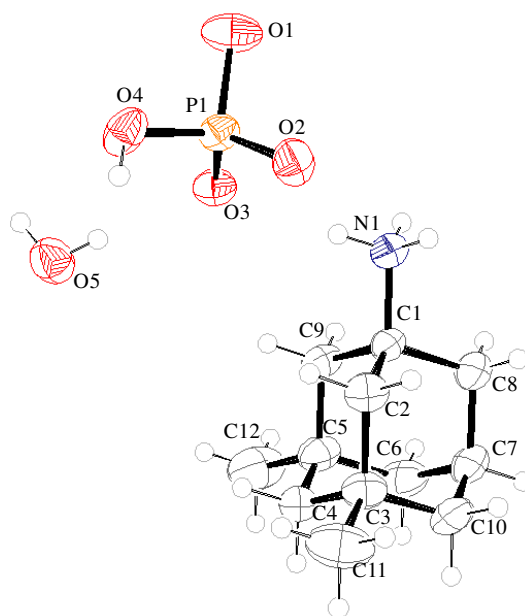


Slika 36. Projekcija kristalne strukture MMN DHP duž kristalografske  $a$ -osi: a) podstruktura (u prikazu kristalnog pakiranja pokazana je samo glavna komponenta od oko 53 %) i b) superstruktura.

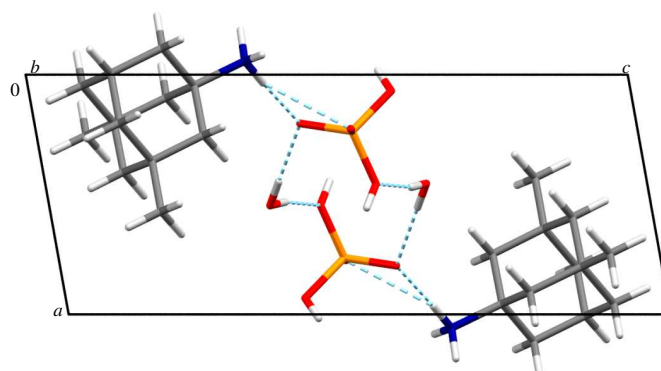
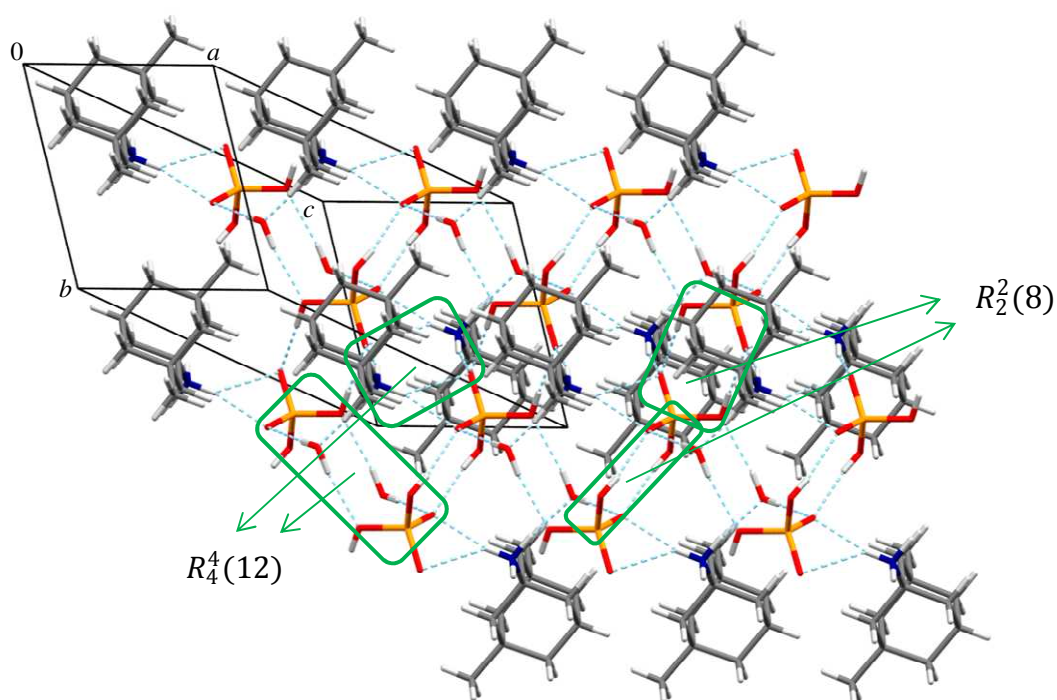


Slika 37. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN DHP: a) podstruktura (u prikazu kristalnog pakiranja pokazana je samo glavna komponenta od oko 53 %) i b) superstruktura.

MMN DHP · H<sub>2</sub>O kristalizira u triklinskom sustavu, *P* -1 prostornoj grupi s dvije formulske jedinice MMN DHP · H<sub>2</sub>O u jediničnoj ćeliji (tablice D7 i D20). Radi se o slojevitoj strukturi gdje se između kationa memantina smještaju slojevi koje tvore dihidrogenfosfatni anioni i molekule vode (slike 38, 39, 40 i D38). Slično kao i u prethodno opisanim slučajevima, kationi memantina orijentiraju se svojim –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> skupinama prema dihidrogenfosfatnim anionima, odnosno molekulama vode. U složenoj mreži vodikovih veza između protoniranih amino grupa kationa memantina koje djeluju kao donori vodikove veze te dihidrogenfosfatnih aniona i molekula vode koje simultano djeluju kao donori i akceptori vodikove veze mogu se prepoznati tri karakteristična motiva: lanac kojeg tvore  $R_2^2(8)$  prstenovi između dihidrogenfosfatnih aniona koji su istovremeno donori i akceptori vodikove veze i lanac u kojem alterniraju  $R_4^4(12)$  prstenovi između dihidrogenfosfatnih aniona koji su akceptori vodikove veze i molekula vode koje su donori vodikove veze (slika 40).<sup>110-114</sup> Dodatno, supramolekulsku strukturu karakteriziraju  $R_4^4(12)$  prstenovi između dihidrogenfosfatnih aniona, akceptora vodikove veze i protoniranih amino grupa kationa memantina koji su kako je već bilo spomenuto donori vodikove veze (slika 40).<sup>110-114</sup> Molekule vode nalaze se u kanalima između kationa memantina i dihidrogenfosfatnih aniona, duž kristalografske *c*-osi i igraju važnu ulogu u mreži vodikovih veza (slika 40).



Slika 38. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN DHP · H<sub>2</sub>O.  
Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.

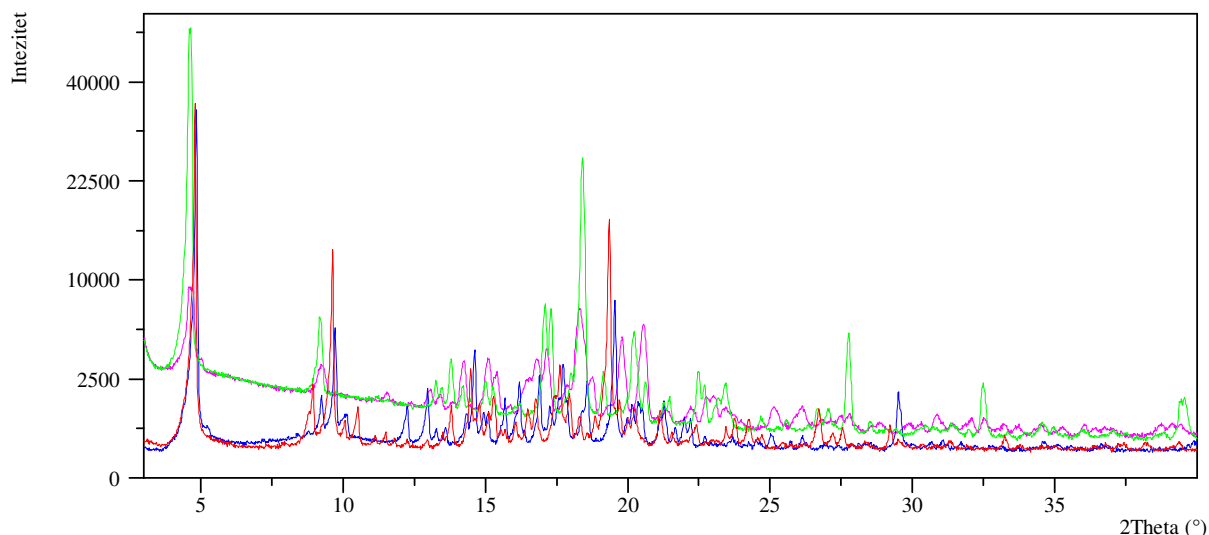
Slika 39. Projekcija kristalne strukture MMN DHP · H<sub>2</sub>O duž kristalografske *b*-osi.Slika 40. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN DHP · H<sub>2</sub>O.

#### 4.4. 3,5-Dimetiladamantan-1-amonijev mesilat (MMN MES)

Za pripremu MMN MES korišten je 1 : 1 molarni omjer baze i kiseline. Maseni udio 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog mesilata u pripremljenom uzorku koji je određen kiselo-baznom titracijom provedenom prema opisu u odjeljku 3.8.4.3, potvrdio je da je pripremljeni uzorak uistinu mesilatna sol memantina (tablica D2)

Direktna kristalizacija iz reakcijske smjese provedena iz smjese toluena i acetona, na način koji je opisan u odjeljku 3.3.4.1, rezultirala je pripremom kristalne forme 1 MMN MES. U

ostalim kristalizacijskim pokusima koji su opisani u pogavlju 3.4 pripremljene su još tri kristalne forme, dva polimorfa i solvat MMN MES (odjeljci 3.3.4.2 do 3.3.4.4, slika 41).



Slika 41. Usporedba difraktograma MMN MES forme 1 (plavo), MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> (zeleno), MMN MES forme 2 (ljubičasto) i MMN MES forme 3 (crveno).

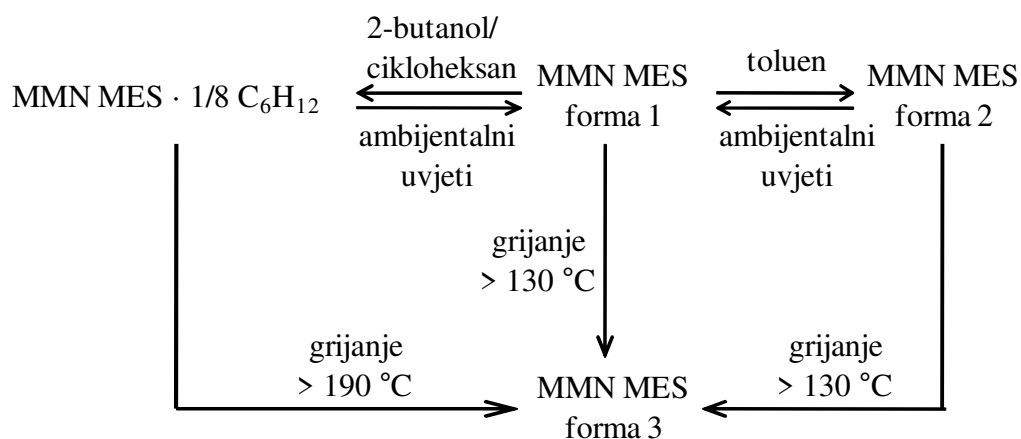
DSC krivulja MMN MES forme 1 pokazuje dva temperaturna događaja (slika D8). Prvi se zbiva u temperaturnom području između 110 i 130 °C, dok se drugi opaža između 200 i 225 °C. Uzevši u obzir rezultate termičke analize (slika D8) prvi je događaj pripisan polimorfnom prijelazu, dok drugi odgovara razlaganju uzorka soli. Kako bi se ova pretvorba dodatno rasvijetlila, uzorak MMN MES forme 1 grijan je pri 130 °C u vremenskom razdoblju od 17 sati, te je tako dobiveni materijal ohlađen do sobne temperature i prikupljen mu je difraktogram praha. Difraktogram grijanog materijala se značajno razlikovao od onog polaznog uzorka, što je upućivalo na to da opisan postupak vodi do prijelaza u novu polimorfnu formu soli MMN MES nazvanu forma 3 (slika 41, shema 9). Da je doista riječ o novoj polimorfnoj formi potvrđuje i DSC krivulja grijanog uzorka koja pokazuje jedan oštri endotermni događaj u temperaturnom području između 200 i 215 °C koji se može pripisati taljenju materijala (slika D13), dok na krivulji termogravimetrijske analize MMN MES forme 3 nije uočen nikakav pad mase sve do oko 240 °C kada se pojavljuje endotermni događaj koji se može pripisati raspadu uzorka (slika D14).

Solvat MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> pripremljen je prekrizacijom MMN MES forme 1 isključivo iz smjese 2-butanola i cikloheksana. DSC krivulja spoja pokazuje dva temperaturna događaja (slika D9). Prvi široki endotermni događaj odvija se između 175 i 190 °C te drugi,

oštri endotermni događaj između oko 200 i 215 °C. Termogravimetrijska analiza otkriva dva uzastopna koraka gubitka mase (slika D10). Prvi gubitak mase od 4,5 % koji upućuje na „izlazak“ otapala i dobro se poklapa sa širokim endotermnim događajem DSC krivulje te drugi gubitak mase iznad 195 °C koji kao i oštri endotermni događaj DSC krivulje upućuje na raspad uzorka. Usporedbom DSC krivulje MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> sa DSC krivuljom forme 3 MMN MES u temperaturnom području iznad oko 195 °C može se zaključiti kako spomenuti „izlazak“ otapala uključuje pretvorbu u formu 3 MMN MES. Spektroskopija NMR u *d*<sub>6</sub>-DMSO otopini (slika D42), kao i rentgenska strukturna analiza potvrdile su prisutnost oko 4,3 % cikloheksana u strukturi spoja (slika 46).

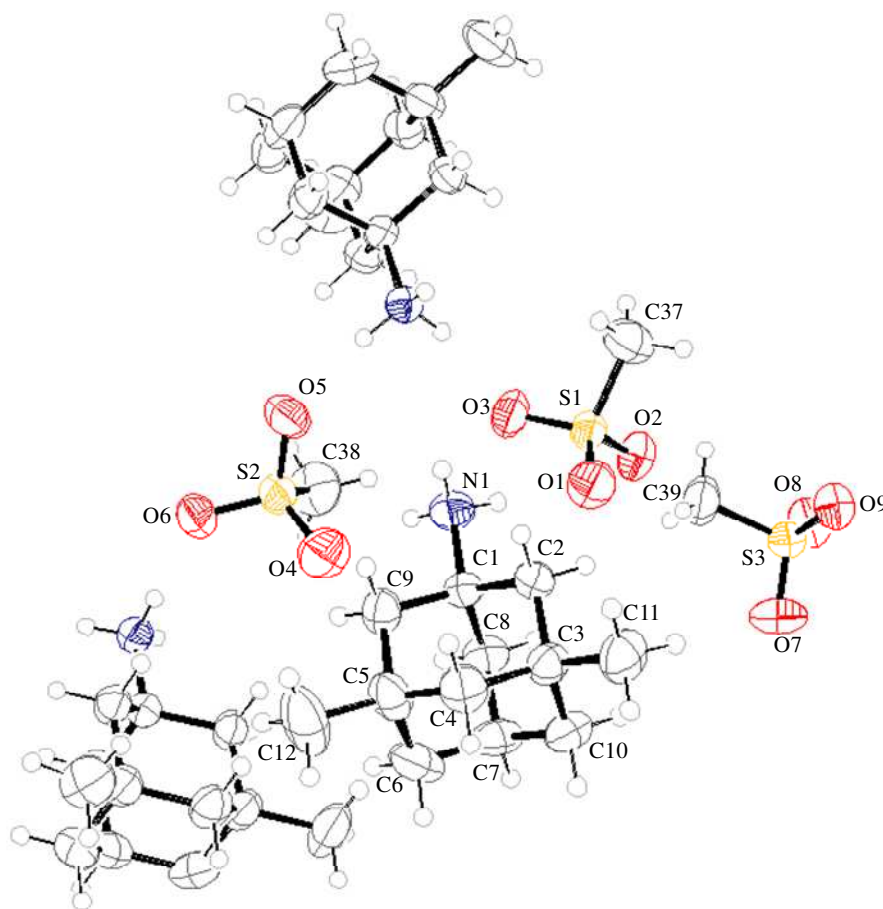
MMN MES formu 2 bilo je moguće pripremiti samo prekristalizacijom MMN MES forme 1 iz toluena. DSC krivulja MMN MES forme 2 otkriva dva događaja, između 120 i 130 °C te između 200 i 215 °C, dok se na TG krivulji opaža jedan korak gubitka mase pri temperaturama višim od oko 190 °C (slike D11 i D12). Uzevši u obzir rezultate spomenutih analiza može se zaključiti kako zagrijavanjem forme 2 MMN MES dolazi do faznog prijelaza. Usporedbom DSC krivulje forme 3 MMN MES te DSC krivulje forme 2 MMN MES u temperaturnom području iznad oko 130 °C zaključeno je kako spomenuti fazni prijelaz uključuje pretvorbu forme 2 MMN MES u formu 3 te soli (slike D11 i D13, shema 9).

IR spektri pripremljenih formi mesilatne soli memantina, gotovo se u cijelosti poklapaju (slike D27, D28, D29 i D30). Već više puta spomenuto, pri oko 2900 cm<sup>-1</sup> nalazi se široka vrpca koja odgovara N–H istezanjima –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupe kationa MMN i C–H vibracijama istezanja adamantanske jezgre kao i metilnoj grupi mesilatnog aniona.<sup>139</sup> Tipične vrpce simetričnog i asimetričnog S–O istezanja nalazimo pri 1180 cm<sup>-1</sup> i 1040 cm<sup>-1</sup>, vrpca pri 780 cm<sup>-1</sup> povezuje se s vibracijama istezanja C–S veze dok se vrpca pri oko 540 cm<sup>-1</sup> odgovara načinu savijanja SO<sub>3</sub> dijela.<sup>139</sup>



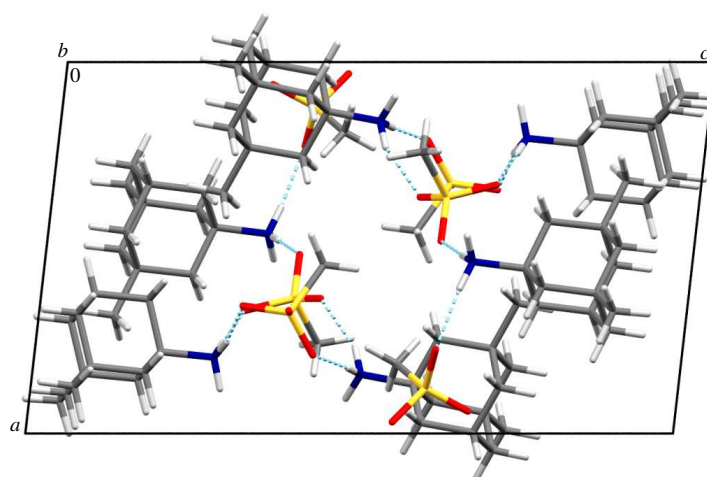
Shema 9. Transformacije kristalnih formi MMN MES.

Prekristalizacijom forme 1 MMN MES iz smjese *i*-propil-acetata i metanola pripremljeni su jedinični kristali te forme te su joj određene molekulska i kristalna struktura (tablica D10, slike 42 i 43). Spomenuta forma kristalizira u triklinskom sustavu, u prostornoj grupi *P*-1 sa šest formulskih jedinki u jediničnoj ćeliji (tablice D10 i D21). U strukturi se opažaju slojevi koje u unutarnjem sloju grade anioni mesilata, a između njih se nalaze kationi MMN koji su sa svojom  $-\text{NH}_3^+$  skupinom usmjereni prema anionima mesilata (slike 43, 44 i D39). Kationi MMN sa svojom  $-\text{NH}_3^+$  skupinom prave tri donorske vodikove veze s atomom kisika triju aniona mesilata koji djeluju kao akceptor vodikove veze tj. svaki anion mesilata gradi tri akceptorske vodikove veze s  $-\text{NH}_3^+$  skupinom triju kationa MMN koji kako je već opisano djeluju kao donori vodikove veze.



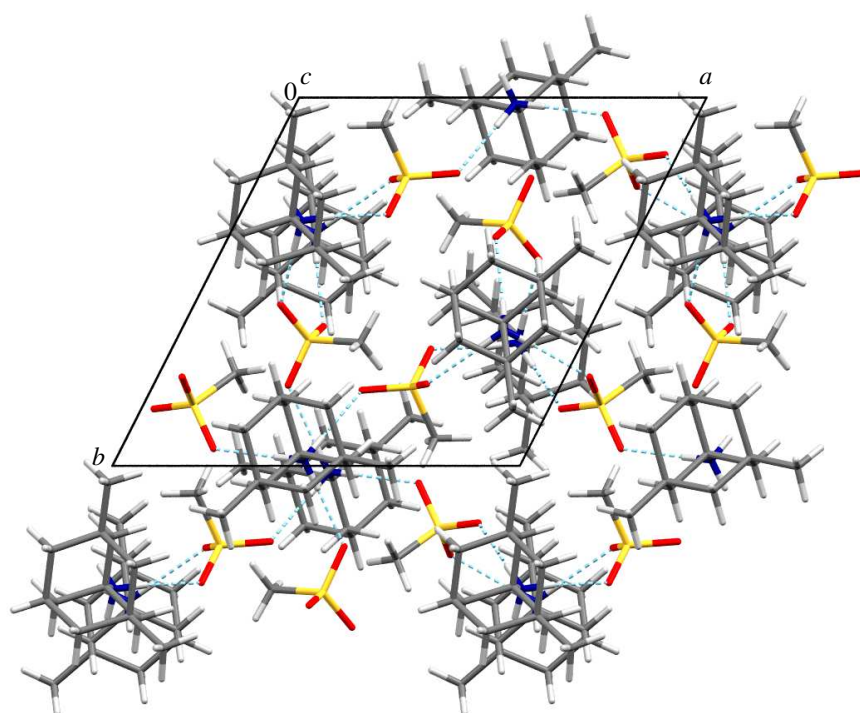
Slika 42. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN MES forme 1.

Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće. Za jasniji prikaz, označeni su atomi samo jednog MMN kationa.



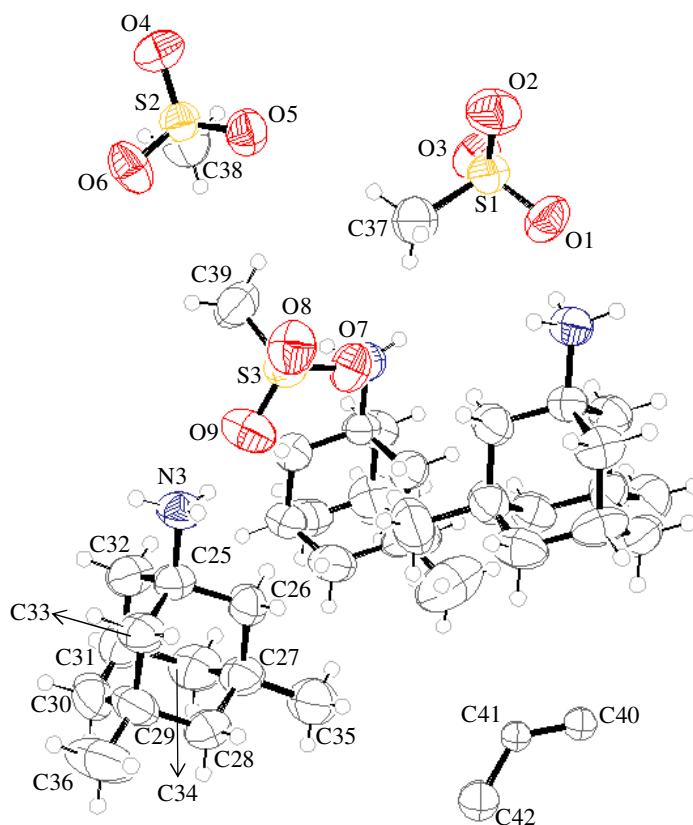
Slika 43. Projekcija kristalne strukture MMN MES forme 1 duž kristalografske *b*-osi.



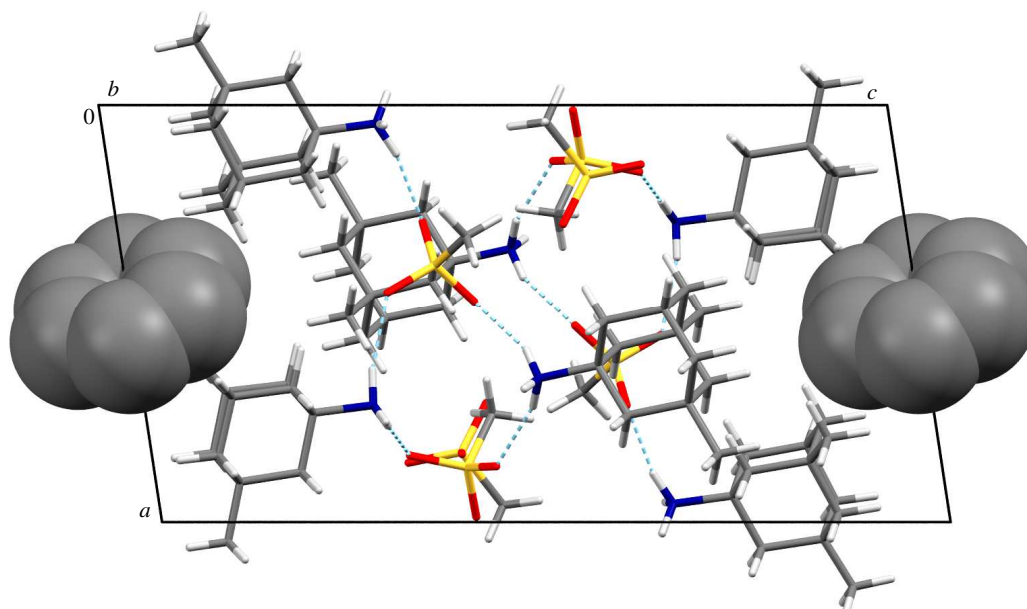


Slika 44. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN MES forme 1.

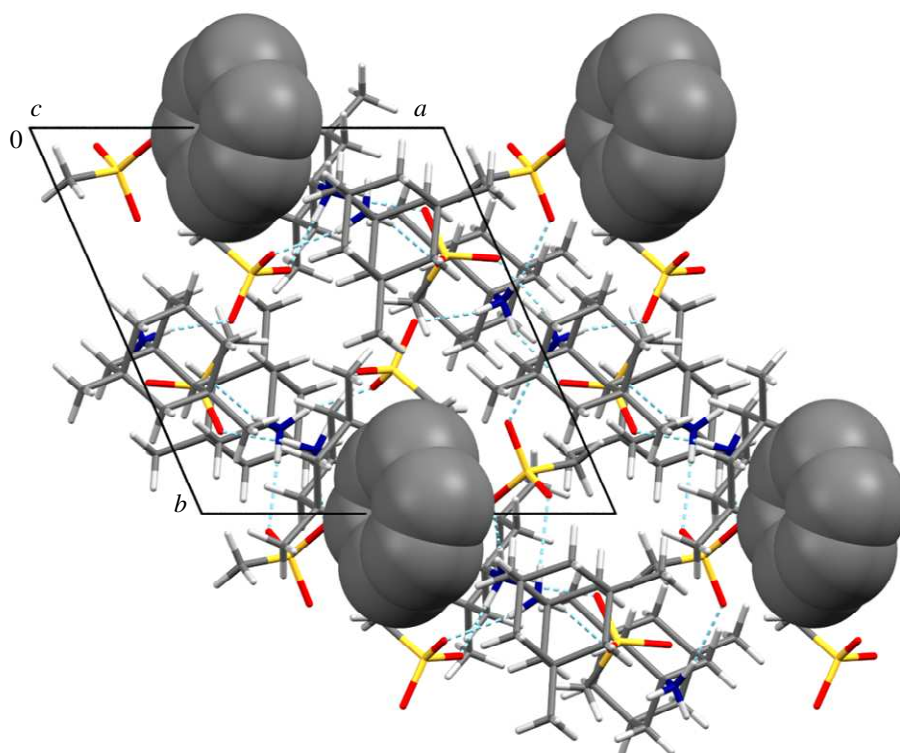
Kako je već bilo spomenuto, prekrizacijom MMN MES forme 1 u smjesi 2-butanola i cikloheksana pripremljeni su jedinični kristali cikloheksanskog solvata ove soli, MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> (tablice D10 i D22). Spoj kristalizira u triklinskom sustavu, u prostornoj grupi *P*-1, s tri formulske jedinice MMN MES i 1/8 molekule cikloheksana u jediničnoj ćeliji (tablica D10, slike 45 i 46). I u strukturi solvata MMN MES uočavamo slojeve koje u unutarnjem dijelu čine anioni mesilata između kojih se nalaze kationi MMN, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> skupinom orijentirani prema anionima mesilata (slika D40). I u ovoj strukturi svaki kation MMN povezan je sa svojom -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> skupinom s tri donorske vodikove veze s atomom kisika triju aniona mesilata kao akceptorima vodikove veze tj. svaki mesilatni anion povezan je s tri akceptorske vodikove veze s -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> skupine triju kationa MMN kao akceptorima vodikove veze. Zanimljivo je uočiti da se između slojeva MMN tj. u šupljinama između kationa MMN smještaju molekule cikloheksana (slike 46 i D40).



Slika 45. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>. Molekula cikloheksana nalazi se na specijalnom položaju zbog čega su prikazana samo 3 atoma molekule. Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće. Za jasniji prikaz, označeni su atomi samo jednog MMN kationa.

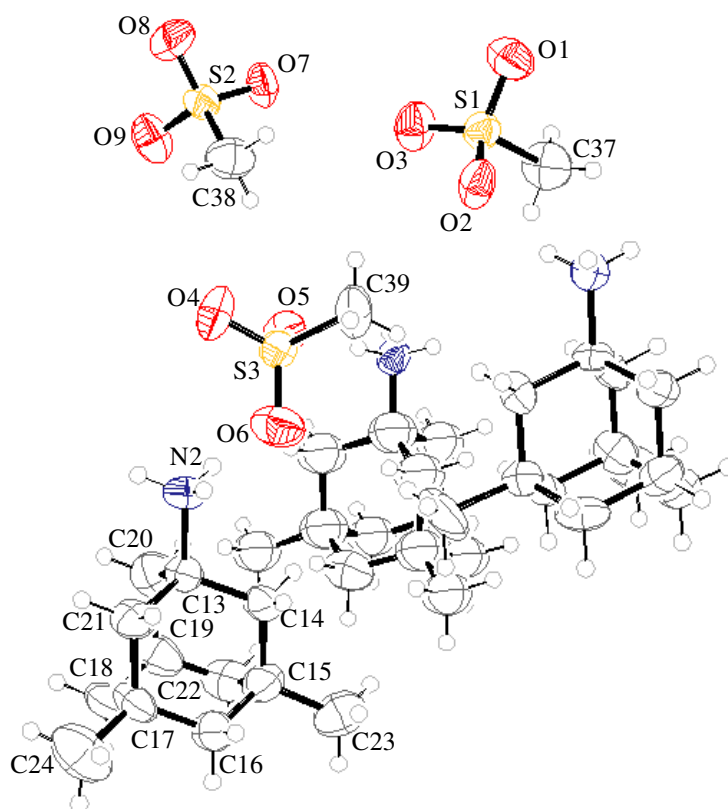


Slika 46. Projekcija kristalne strukture MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> duž kristalografske *b*-osi (molekule cikloheksana prikazane su kalotnim modelom).



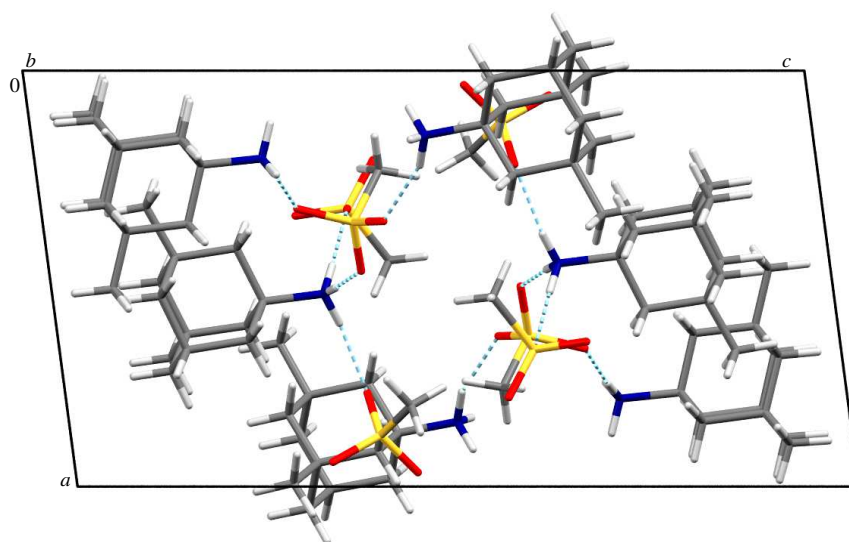
Slika 47. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> (molekule cikloheksana prikazane su kalotnim modelom).

Prekristalizacijom forme 1 MMN MES u toluenu pripravljeni su jedinični kristali forme 2 MMN MES (tablica D11). MMN MES forma 2 kristalizira u triklinskom sustavu, u prostornoj grupi  $P-1$  sa šest formulskih jedinki u jediničnoj ćeliji (tablice D11 i D23, slike 48, 49 i 50). Kristalna struktura ove forme pokazuje veliku sličnost s kristalnom strukturom prethodno opisane forme 1 MMN MES (slike 43 i 49). I ovdje se jasno mogu uočiti slojevi u strukturi pri čemu se u unutrašnjem dijelu nalaze anioni mesilata između kojih su umetnuti kationi MMN, ponovno, s  $-\text{NH}_3^+$  grupom usmjerenom prema unutrašnjosti sloja tj. mesilatnim anionima (slika D41). Uočavaju se i isti motivi vodikovih veza kao i kod forme 1 i solvata MMN MES. Svaka  $-\text{NH}_3^+$  grupa kationa MMN čini tri donorske vodikove veze s atomom kisika triju aniona mesilata kao akceptorima vodikove veze tj. svaki anion mesilata ostvaruje tri akceptorske vodikove veze s tri kationa MMN preko  $-\text{NH}_3^+$  grupe kao donorom vodikove veze (slika 50).

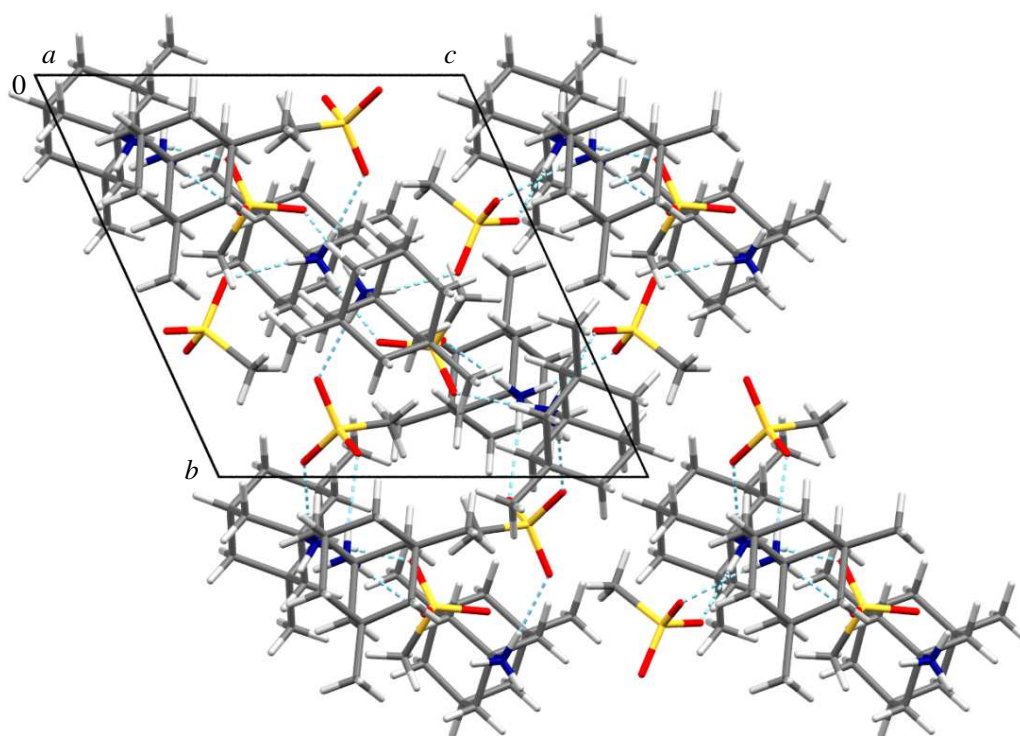


Slika 48. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN MES forme 2.

Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće. Za jasniji prikaz, označeni su atomi samo jednog MMN kationa.



Slika 49. Projekcija kristalne strukture MMN MES forme 2 duž kristalografske *b*-osi.



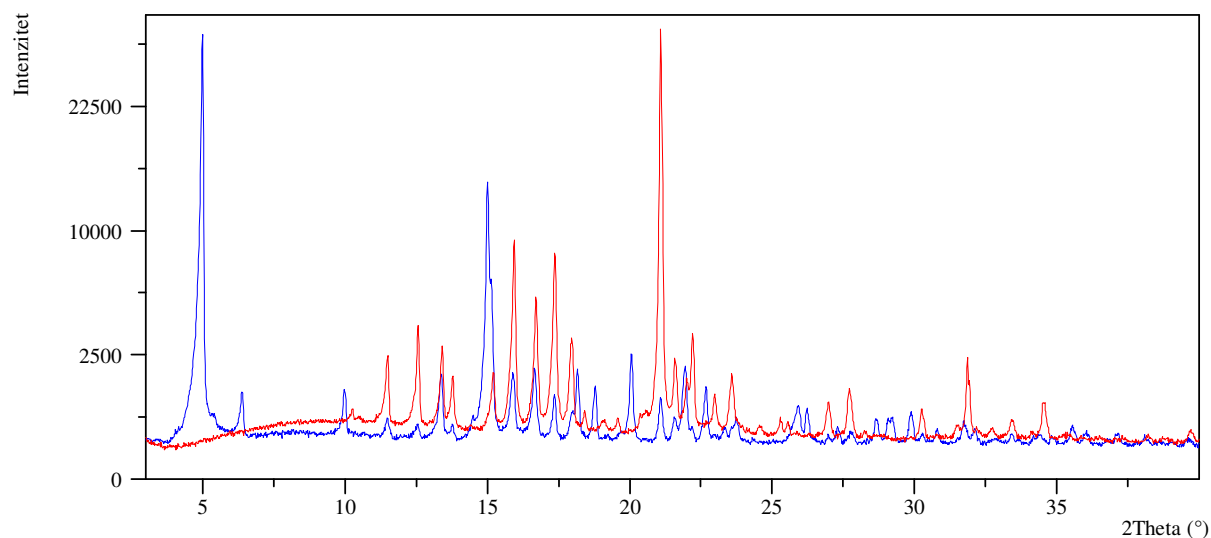
Slika 50. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN MES forme 2.

Unatoč svim naporima MMN MES forma 3 se nije mogla pripraviti u formi jediničnih kristala pa joj struktura ostaje nepoznata.

#### 4.5. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogenmaleat (MMN HMAL)

Sol MMN HMAL pripravljena je uz molarni omjer kiseline i baze 1 : 1. Kiselo-bazna titracija, opisana u odjeljku 3.8.4.3, kojom je određen udio 3,5-dimetiladamantna-1-ilamonijevog hidrogensulfata u uzorku, pokazala je da pripremljeni uzorak odgovara hidrogenmaleatnoj soli memantina (tablica D2)

Direktna kristalizacija iz reakcijske smjese provedena je iz smjese toluena i acetona, na način opisan u odjeljku 3.3.5.1, rezultirala je s MMN HMAL, dok je ostalim kristalizacijskim pokusima opisanima u poglavlju 3.4 pripremljen monohidrat spomenute soli, MMN HMAL · H<sub>2</sub>O (odjeljak 3.3.5.2, slika 51).

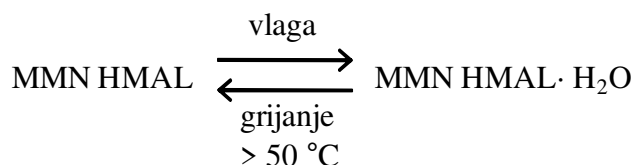


Slika 51. Usporedba difraktograma MMN HMAL (crveno) i MMN HMAL · H<sub>2</sub>O (plavo).

Rezultati provedene termička analize, točnije razlikovne pretražne kalorimetrije i termogravimetrijske analize, ukazali su kako hidrat ove soli, MMN HMAL · H<sub>2</sub>O, zagrijavanjem iznad 40 °C, prelazi u svoju bezvodnu formu, MMN HMAL (slike D15, D16 i D17) što je i potvrđeno na način da je grijanom uzorku prikupljen difraktogram koji je odgovarao difraktogramu MMN HMAL (slika 51). Termogravimetrijska analiza MMN HMAL · H<sub>2</sub>O otkriva, u temperaturnom području između 30 °C i 100 °C gubitak mase oko 5,5 % koji odgovara izlazu jedne molekule vode (slika D17). DSC krivulja u spomenutom području pokazuje široki endoterm te dodatni endotermni signal u temperaturnom intervalu između 175 °C i 220 °C, koji se može povezati s razlaganjem soli, što potvrđuje i termogravimetrijska analiza (slika D17). Dodatno treba istaknuti kako su DSC krivulje spojeva MMN HMAL i HMAL · H<sub>2</sub>O u temperaturnom području iznad oko 100 °C gotovo identične (slike D15 i D17). Dodatni eksperimenti, koji su uključivali grijanje spoja MMN HMAL · H<sub>2</sub>O pri 50 °C u trajanju od 24 sata te izlaganje spoja MMN HMAL uvjetima vlage (100 % relativne vlažnosti) kroz 24 sata, rasvijetili su da je transformacija MMN HMAL · H<sub>2</sub>O u MMN HMAL reverzibilna (shema 10).

U IR spektrima MMN HMAL i MMN HMAL · H<sub>2</sub>O (slike D31 i D32) uočava se se tipična vrpca N–H istezanja –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupe kationa MMN i C–H istezanja adamantanske jezgre pri oko 2900 cm<sup>-1</sup> dok se pri oko 3070 cm<sup>-1</sup> uočava vrpca O–H istezanja intramolekulske veze hidrogenmaleatnog aniona.<sup>139</sup> Kod MMN HMAL · H<sub>2</sub>O pojavljuje se i karakteristična široka vrpca pri oko 3395 cm<sup>-1</sup> tipična za hidrate.<sup>139</sup> U području „otiska prsta“ postoje određene

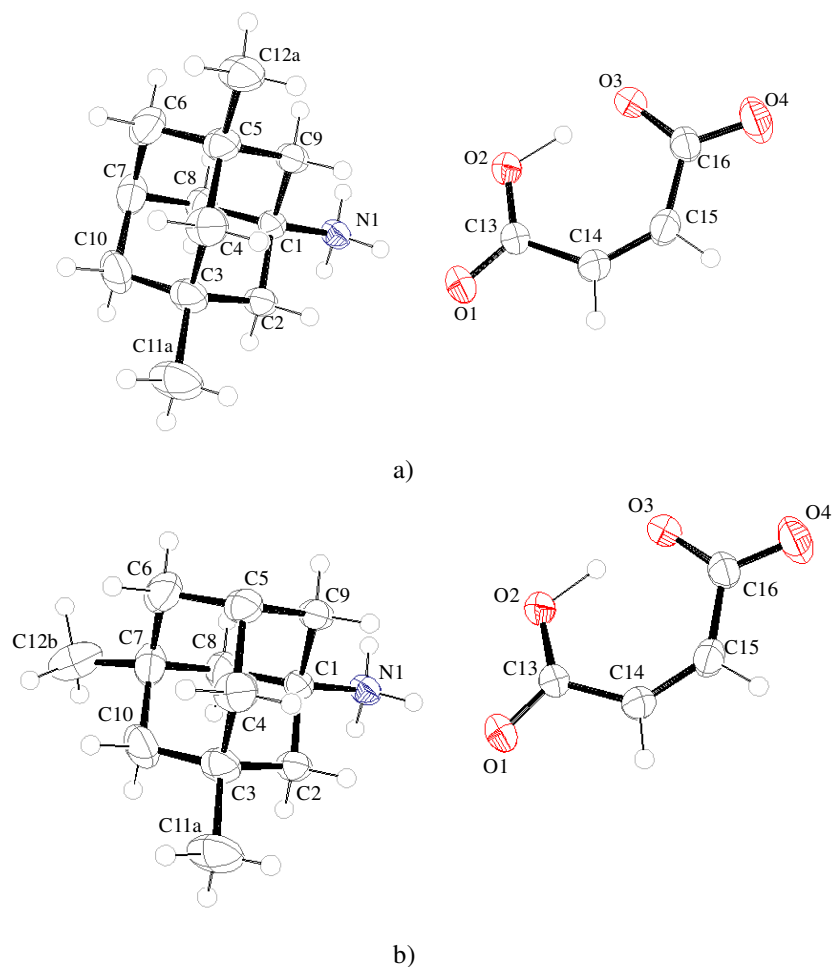
razlike, tako kod MMN HMAL nalazimo vrpce pri  $1570\text{ cm}^{-1}$ ,  $1520\text{ cm}^{-1}$ ,  $1455\text{ cm}^{-1}$  te pri  $1350\text{ cm}^{-1}$  koje odgovaraju istezanjima C=C i C–O veza dok kod MMN HMAL · H<sub>2</sub>O navedena istezanja postoje pri  $1580\text{ cm}^{-1}$ ,  $1450\text{ cm}^{-1}$  i  $1350\text{ cm}^{-1}$ , a vrpce savijanja C=C i CO veza kod MMN HMAL nalazimo pri  $1030\text{ cm}^{-1}$  i  $870\text{ cm}^{-1}$ , odnosno pri  $1000\text{ cm}^{-1}$  i  $860\text{ cm}^{-1}$  kod MMN HMAL · H<sub>2</sub>O.<sup>139</sup>



Shema 10. Transformacije kristalnih formi MMN HMAL.

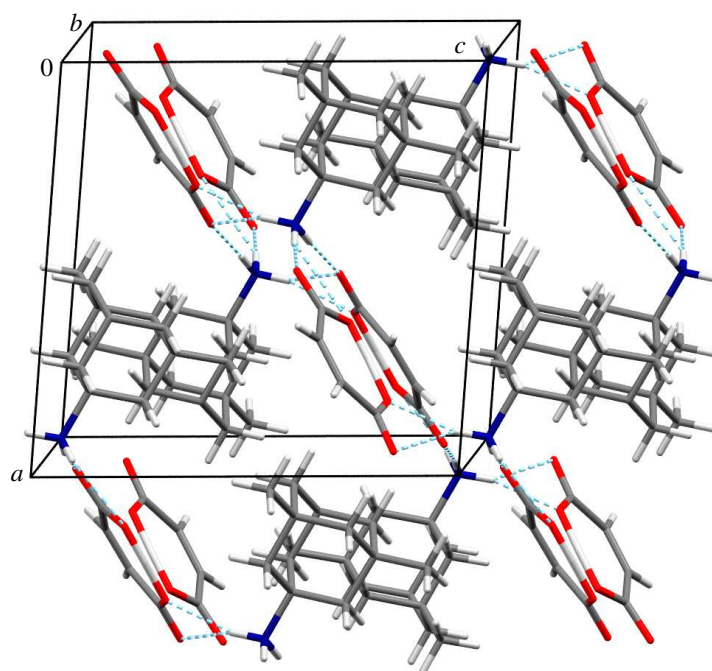
Jedinični kristali spoja MMN HMAL pripremljeni su prekrizacijom sirovog materijala u 1,4-dioksanu (tablica D12). Prekrizacijom spoja MMN HMAL iz smjese *n*-propil-acetata i etanola dobiveni su jedinični kristali MMN HMAL · H<sub>2</sub>O (tablice D12, D24 i D25). Rentgenskom strukturnom analizom utvrđeno je da MMN HMAL kristalizira u monoklinskom sustavu, u prostornoj grupi *P* 2<sub>1</sub>/*n* s četiri formulske jedinice MMN HMAL u jediničnoj ćeliji dok MMN HMAL · H<sub>2</sub>O kristalizira u rompskom sustavu, u prostornoj grupi *A* *ea*2 s osam formulskih jedinica u jediničnoj ćeliji (tablica D12, slike 52, 53, 55 i 56). Obje strukture karakterizira složena mreža vodikovih veza u koju su uključene protonirane amino skupine MMN kationa i anioni hidrogenmaleata te intramolekulska vodikova veza kod hidrogenmaleatnih aniona (slike 54 i 57). Dok u strukturi MMN HMAL svaka –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupa tvori tri donorske vodikove veze s kisikom triju hidrogenmaleatnih aniona kao akceptorima veze, pri čemu su dvije bifurkirane na dva kisika hidrogenmaleatnog aniona (slika 54), u strukturi MMN HMAL · H<sub>2</sub>O, –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupa kationa MMN ostvaruje tri donorske vodikove veze od kojih dvije uključuju dva hidrogenmaleatna aniona s kisikom kao akceptorom veze, pri čemu je jedna bifurkirana na dva kisika hidrogenmaleatnog aniona, treća obuhvaća molekulu vode kao akceptor veze (slika 57).<sup>140</sup> Prisutne molekule vode imaju i ulogu donora vodikove koje ostvaruju s kisikom dvaju hidrogenmaleatnih aniona. Strukturu MMN HMAL · H<sub>2</sub>O karakterizira veća raznolikost vodikovih veza u kojoj dominiraju diskretni motivi, u usporedbi s MMN HMAL gdje se može uočiti karakterističan motiv vodikove veze *R*<sub>4</sub><sup>4</sup>(12) prsten kojeg čine kisici karboksilatne grupe dvaju hidrogenmaleatnih aniona premošteni sa protoniranom amino grupom dvaju kationa koja je kako je već spomenuti donor vodikove

veze MMN ili  $R_4^2(8)$  prsten kada samo jedan atom kisika hidrogenmaleatnog aniona sudjeluje u motivu (slika 54).<sup>110-114</sup>

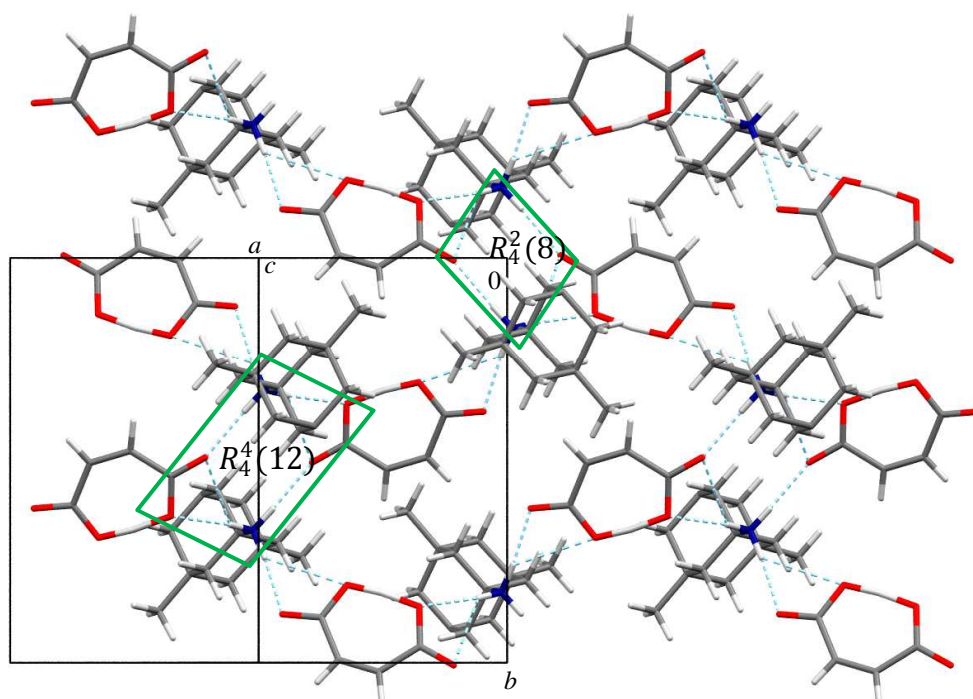


Slika 52. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN HMAL (metil grupe C12a i C12b atoma se nalaze u neredu):  
a) glavna komponentna zastupljena oko 84 % i b) manje zastupljena komponenta od oko 17 %. Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.

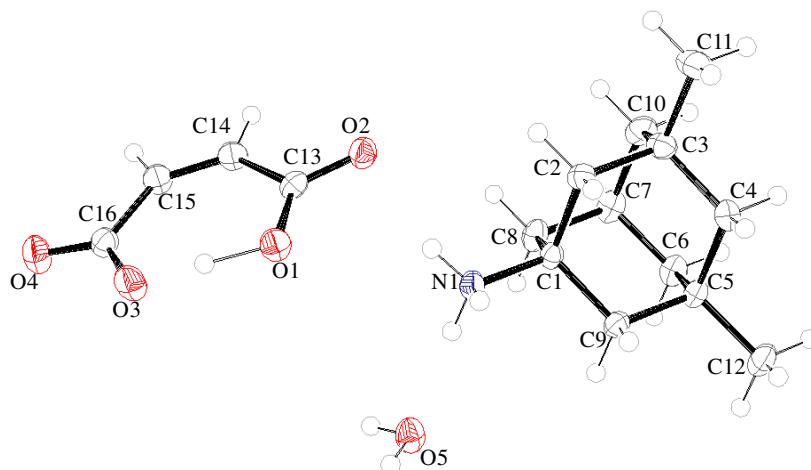




Slika 53. Projekcija kristalne strukture MMN HMAL približno duž kristalografske  $b$ -osi (u prikazu kristalnog pakiranja pokazana je samo glavna komponenta od oko 84 %).

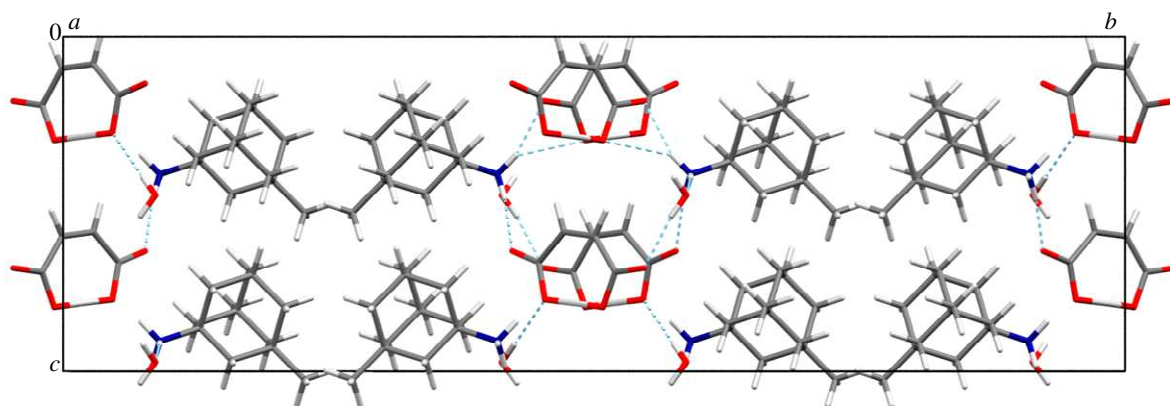


Slika 54. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN HMAL (u prikazu kristalnog pakiranja pokazana je samo glavna komponenta od oko 84 %).

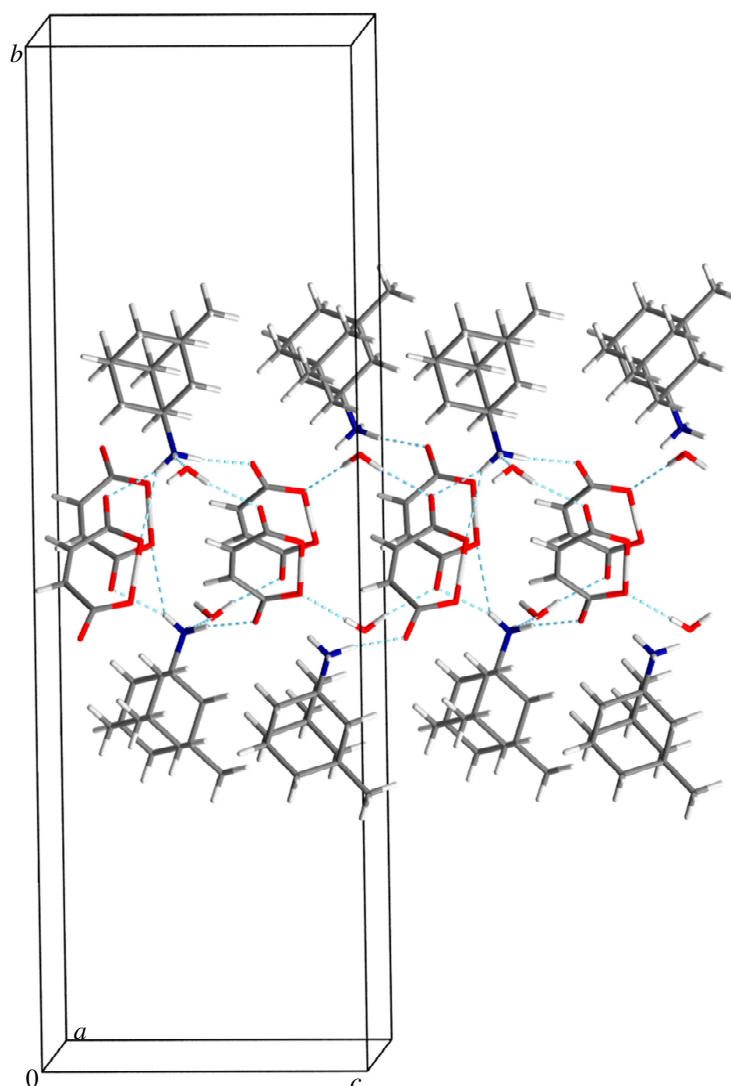


Slika 55. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN HMAL · H<sub>2</sub>O.

Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.



Slika 56. Projekcija kristalne strukture MMN HMAL · H<sub>2</sub>O duž kristalografske *a*-osi.



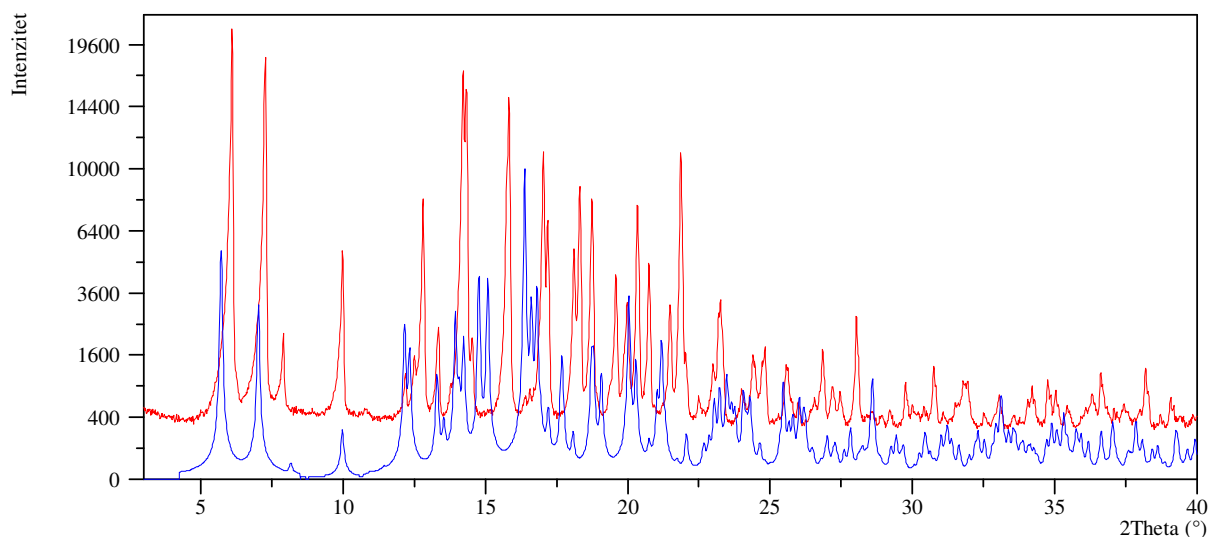
Slika 57. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN HMAL · H<sub>2</sub>O.

#### 4.6. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev maleat (MMN MAL)

Za pripravu MMN MAL upotrijebljen je molarni omjer baze i kiseline 2 : 1. Maseni udio 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog maleata u pripravljenom uzorku, koji je određen kiselo-baznom titracijom prema opisu u odjeljku 3.8.4.3, potvrdio je da pripremljeni uzorak odgovara maleatnoj soli memantina (tablica D2)

Direktna kristalizacija provedena je iz *n*-butil-acetata na način opisan u odjeljku 3.3.6.1 i rezultirala je pripravom kristalne forme MMN MAL koja je nazvana forma 1 dok je ostalim kristalizacijskim pokusima koji su opisani u poglavlju 3.4, pripremljena još jedna kristalna forma ove soli, MMN MAL forma 2 (odjeljak 3.3.6.2, slika 58). Usprkos svim nastojanjima,

forma 2 ove soli dobivala se samo u smjesi sa formom 1 MMN MES te se nije uspjela pripremiti u većoj količini koja bi bila omogućila njenu detaljniju karakterizaciju u čvrstom stanju.



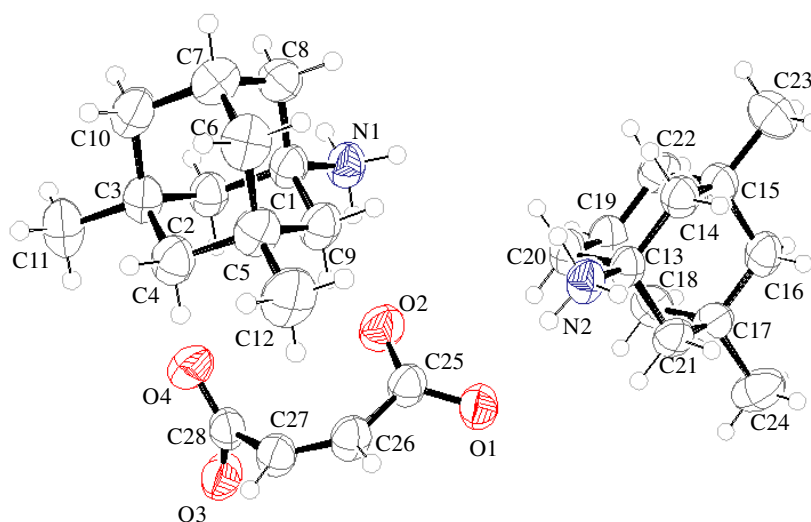
Slika 58. Difraktogram MMN MAL forme 1 (crveno) i MMN MAL forme 2 (plavo) generiran Mercury programom.

DSC krivulja forme 1 ove soli (MMN MAL) otkriva endotermni događaj između 140 °C i 195 °C, koji se poklapa s prvim temperaturnim događajem termogravimetrijske analize između 115 °C i 195 °C gubitka mase od 23,5 % (slika D18). Uzevši u obzir da se na TG krivulji opaža i drugi temperaturni događaj gubitka mase koji se nastavlja na prvo spomenuti gubitak mase, može se reći da navedeni rezultati upućuju na razlaganje soli u dva koraka.

IR spektar MMN MAL forme 1 (slika D33) kao i u svim dosadašnjim solima memantina pokazuje široku vrpću pri oko 2900  $\text{cm}^{-1}$ , a pripisuje se N–H istezanju  $-\text{NH}_3^+$  grupe kationa MMN i C–H istezanja adamantanske jezgre, dok se pri 1550  $\text{cm}^{-1}$ , 1450  $\text{cm}^{-1}$  te 1360  $\text{cm}^{-1}$  i 1290  $\text{cm}^{-1}$  uočavaju vrpce koje odgovaraju istezanju C=C i C–O veza maleatnog aniona.<sup>139</sup>

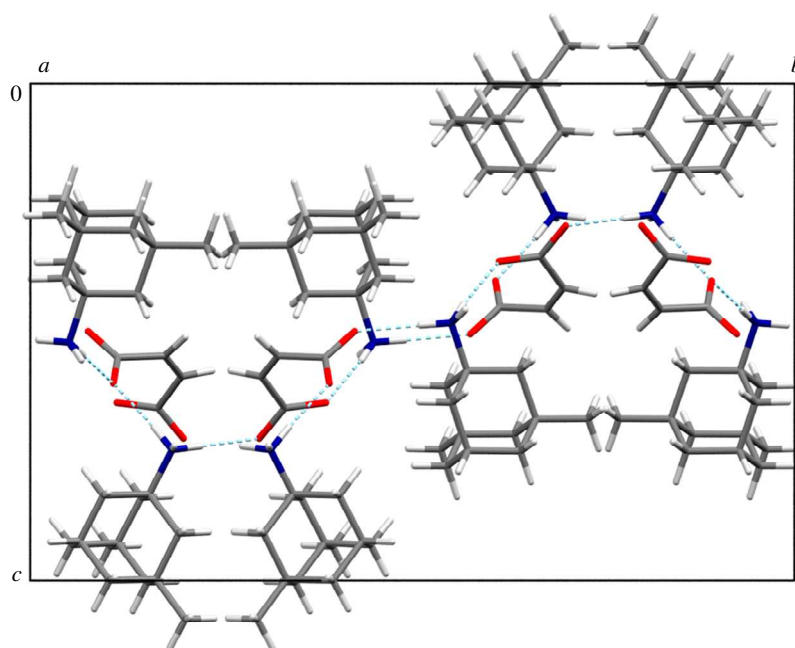
Prekristalizacijom forme 1 MMN MAL iz smjese *n*-propil-acetata i *N,N*-dimetilformamida pripremljen je jedinični kristal ove forme, dok je prekristalizacijom MMN MAL forme 1 u nitrometanu uz sporo hlađenje pripremljen jedinični kristal drugog polimorfa ove soli, MMN MAL forme 2 (tablica D13). Za oba polimorfa je provedena rentgenska strukturna analiza forme (tablice D13, D 26 i D 27, slike 59, 60, 62 i 63). MMN MAL forma 1 kristalizira u monoklinskom sustavu, u prostornoj grupi  $P 2_1/a$  s četiri formulske jedinice MMN MAL u

jediničnoj ćeliji, dok MMN MAL forma 2 kristalizira u monoklinskom sustavu, u prostornoj grupi *P cab* s osam formulskih jedinica MMN MAL u jediničnoj ćeliji (tablica D13). Obje strukture karakteriziraju slojevite „cik-cak“ mreže vodikovih veza u koje su uključene protonirane amino skupine MMN kationa i anioni maleata pri čemu svi kisikovi atomi maleata imaju ulogu akceptora vodikove veze, a  $-\text{NH}_3^+$  grupa kationa MMN donora vodikove veze (slike 60 i 63). Dok se u strukturi MMN MAL forme 1 uočavaju dva karakteristična motiva vodikovih veza:  $R_4^4(18)$  prsten gdje su dva maleatna aniona premoštena s dvije  $-\text{NH}_3^+$  grupe kationa MMN pri čemu su uključene sve četiri karboksilatne grupe tj. po jedan kisikov atom sa svake karboksilatne grupe te  $R_4^4(12)$  prsten gdje su dva aniona maleata premoštena s  $-\text{NH}_3^+$  grupe kationa MMN, ali su u prsten uključene samo dvije karboksilatne grupe tj. oba kisika jedne karboksilatne grupe svakog maleata (slika 61), u strukturi MMN MAL forme 2 dominiraju diskretni motivi vodikovih veza (slika 64).<sup>110-114</sup>

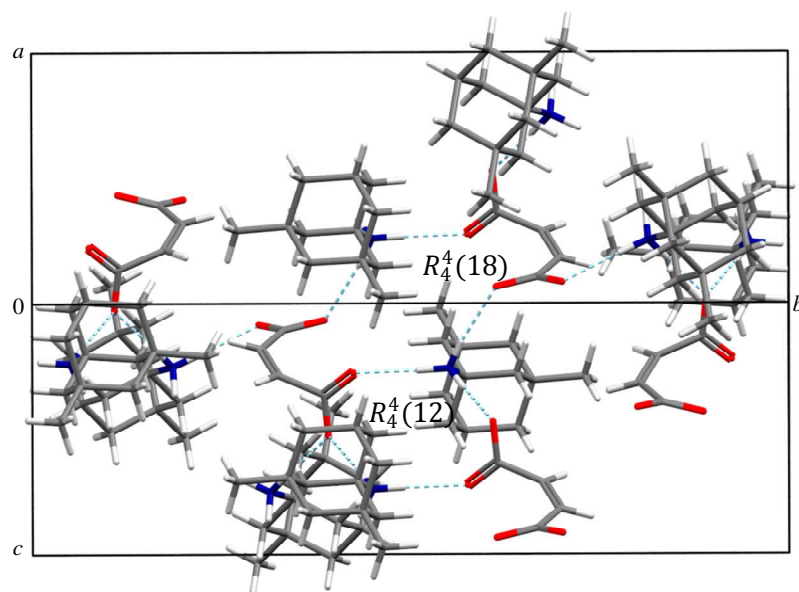


Slika 59. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN MAL forme 1.

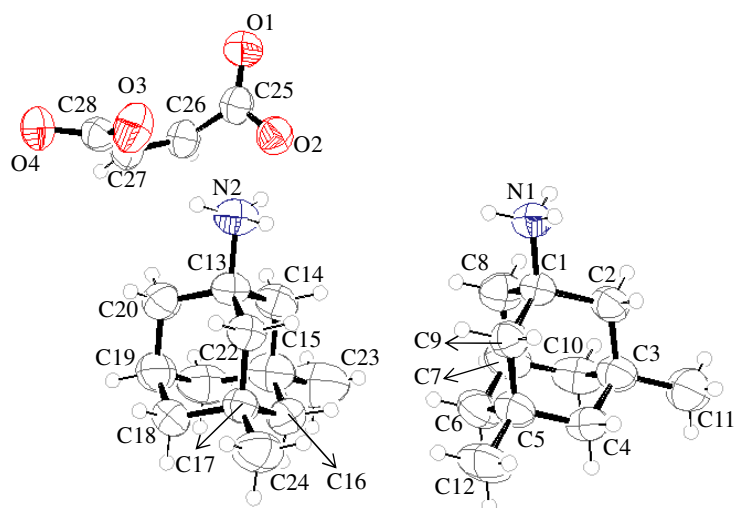
Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.



Slika 60. Projekcija kristalne strukture MMN MAL forme 1 duž kristalografske *a*-osi.

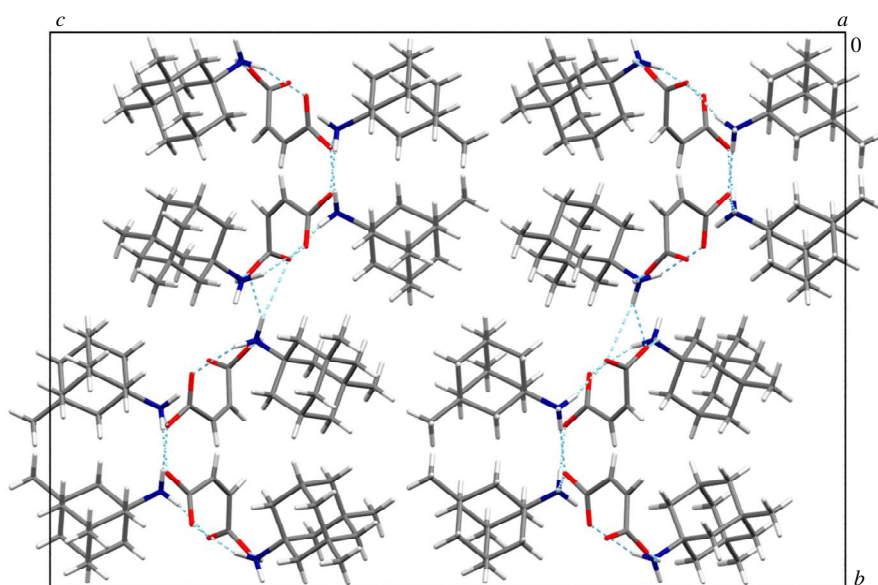


Slika 61. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN MAL forme 1.

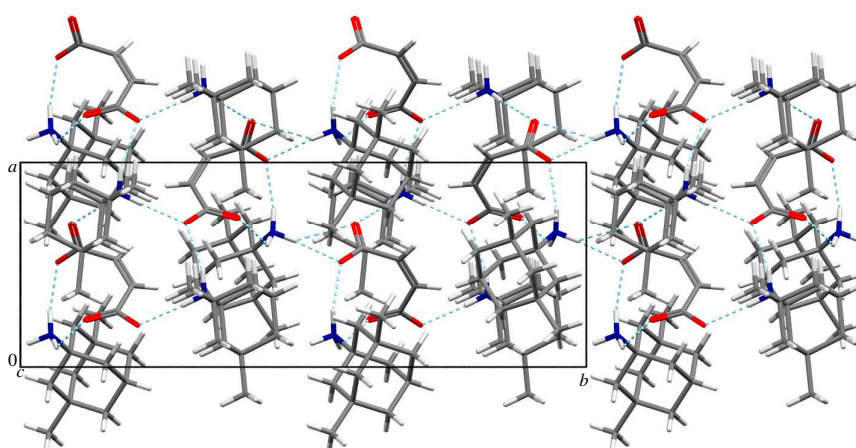


Slika 62. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN MAL forme 2.

Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.



Slika 63. Projekcija kristalne strukture MMN MAL forme 2 duž kristalografske *a*-osi.



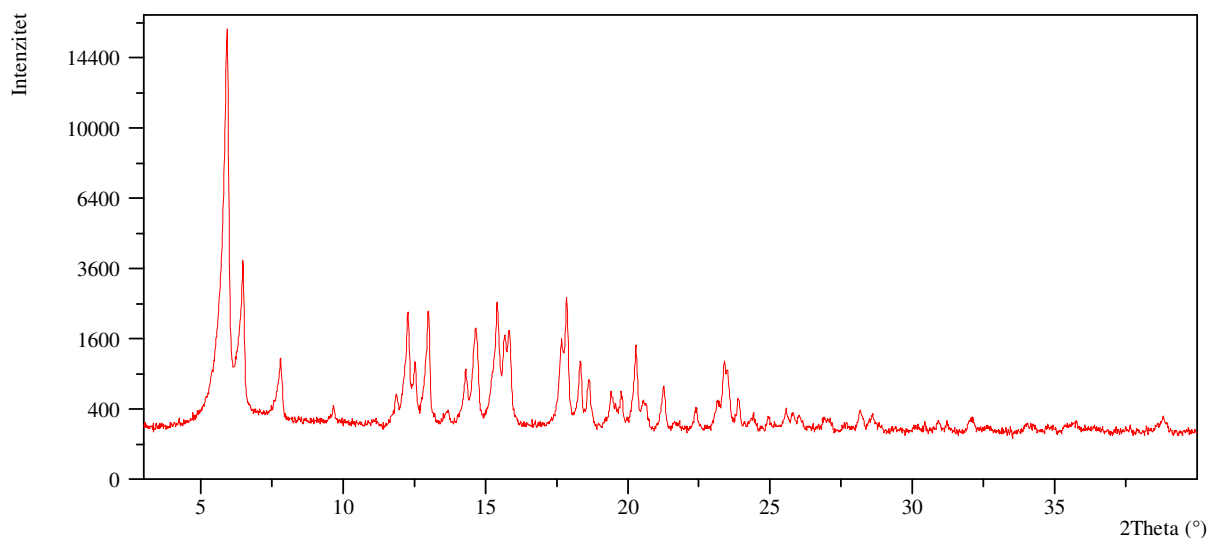
Slika 64. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN MAL forme 2.

#### 4.7. Kokristal 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata i fumarne kiseline (MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM)

Za pripremu kokristala MMN FUM i fumarne kiseline molarni omjer baze i kiseline bio je 1 : 1. S obzirom da je pretpostavljeno da je pripravljena hidrogenfumaratna sol memantina, kiselo-baznom titracijom prema postupku opisanom u odjeljku 3.8.4.3, određen je maseni udio 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogenfumarata u uzorku, koji je doista upućivao da je pripremljeni uzorak hidrogenfumaratna sol memantina (tablica D2), no rentgenska strukturna analiza na jediničnom kristalu nedvojbeno ukazuje da se radi o kokristalu MMN FUM i fumarne kiseline, dakle o MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM o čemu će biti više spomenuto kasnije u tekstu (slike 66 i 67).

Kristalizacija iz reakcijske smjese provedena iz smjese toluena i acetona opisana u odjeljku 3.3.7.1 te ostali kristalizacijski pokusi opisani u poglavlju 3.4 rezultirali su pripravom kokristala MMN FUM i fumarne kiseline (slika 65).



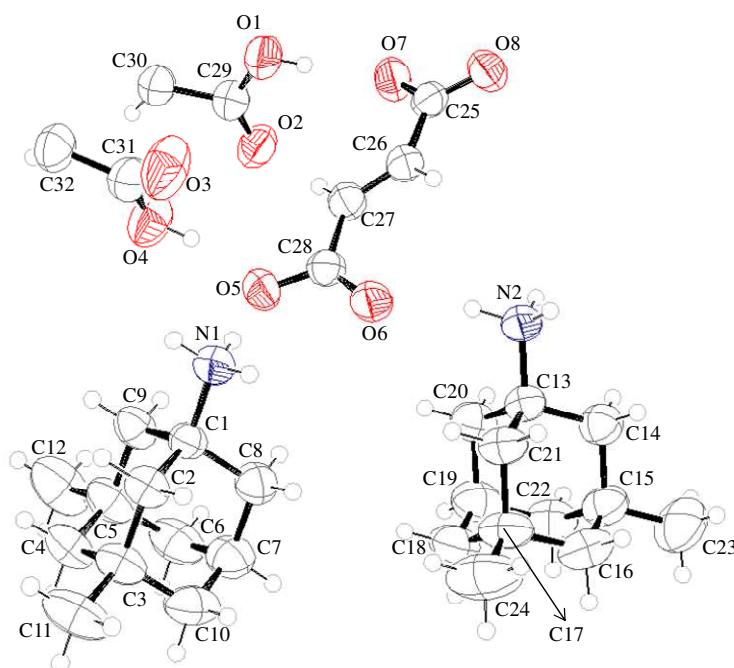
Slika 65. Difraktogram kokristala MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM.

Iako podaci DSC mjerenja pokazuju termičku stabilnost spoja MMN sve do oko 200 °C nakon čega slijedi endotermni proces koji započinje na 203 °C, prema rezultatima termogravimetrijske analize, spoju MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM iznad oko 190 °C započinje promjena mase uzorka koja se može povezati s razlaganjem spoja (slika D19).

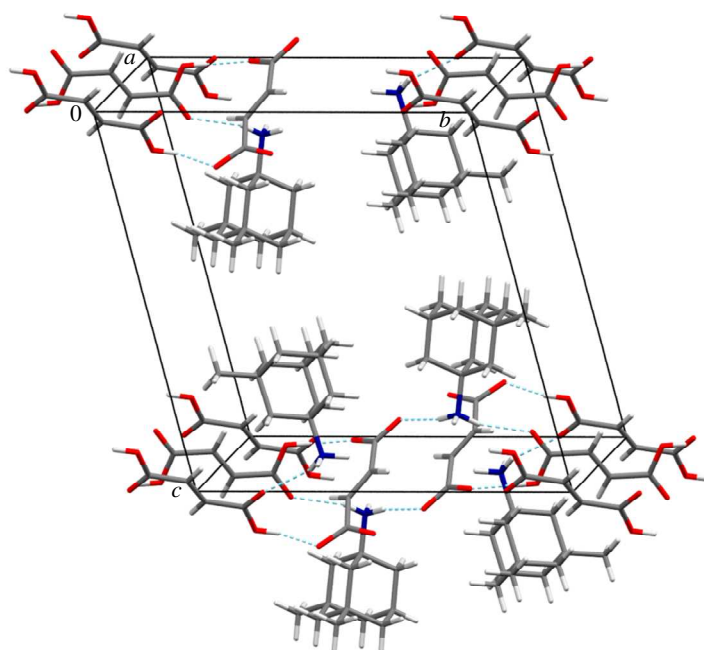
U IR spektru kokristala MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM (slika D35) uočava se vrpca pri oko 2900 cm<sup>-1</sup> koja se povezuje s N–H istezanjem –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupe kationa MMN, ali i C–H istezanja adamantanskog dijela molekule memantina. Vrpca pri oko 3125 cm<sup>-1</sup> pripisuje se COO–H istezanju.<sup>139</sup> U području između 1645 cm<sup>-1</sup> i 1215 cm<sup>-1</sup> postoji više vrpca koje pripadaju C=C i C–O istezanjima fumarne kiseline i fumaratnog aniona.<sup>139</sup>

Prekristalizacijom sirovog materijala iz smjese nitrobenzena i metanola pripremljen je jedinični kristal ovog spoja MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM (tablica D14). Na temelju rezultata difrakcije rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu spoja određena je molekulska i kristalna struktura (slike 66 i 67). MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM kristalizira u triklinskom sustavu, u prostornoj grupi *P* -1 s dvije formulske jedinice u jediničnoj ćeliji (tablice D14 i D29). Strukturu karakteriziraju slojevi složenih mreža vodikovih veza u koje su uključeni protonirane amino skupine MMN kationa, anioni fumarata i fumarna kiselina (slika 67). U mreži vodikovih veza, uočavaju se alternirajući nizovi fumarne kiseline te nizovi aniona fumarata koji su zakrenuti gotovo za 90 ° u odnosu na molekule fumarne kiseline. MMN kationi usmjereni su svojom –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupom prema anionima fumarata, a molekule fumarne kiseline smještaju se u širokom kanalu između MMN kationa i aniona fumarata. Protonirana amino grupa svakog MMN kationa ostvaruje tri donorske vodikove veze, a akceptori veze su

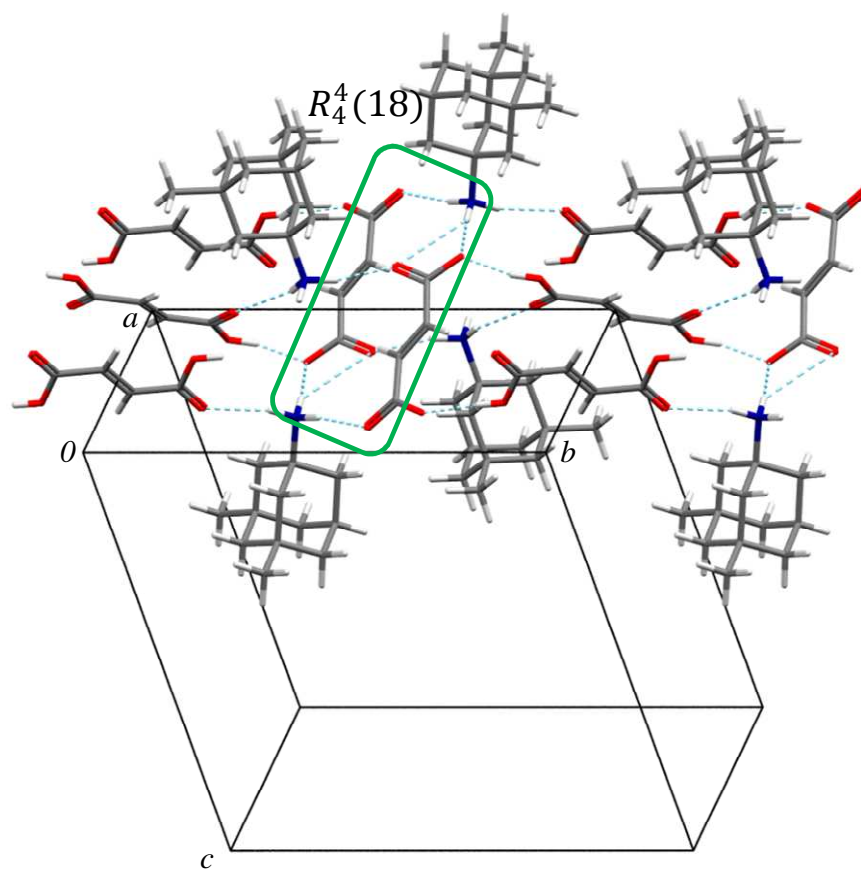
atomi kisika dvaju aniona fumarata te atom kisika fumarne kiseline. Svi kisikovi atomi fumarata imaju ulogu akceptora vodikove veze, dok molekule fumarne kiseline, osim već spomenute uloge akceptora vodikove veze s  $-\text{NH}_3^+$  grupom, ostvaruju i donorske vodikove veze s atomima kisika dvaju fumarata. U strukturi MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM uočava se karakteristični motiv vodikove veze,  $R_4^4(18)$  prsten koji sačinjavaju anioni fumarata povezani kisikovim atomima obiju karboksilatnih skupina kao akceptorima vodikove veze premošteni s dvije  $-\text{NH}_3^+$  grupe kationa MMN koji već kako je spomenuto imaju ulogu donora vodikove veze (slika 68).<sup>110-114</sup>



Slika 66. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM. Molekule fumarne kiseline nalaze se na specifičnom položaju zbog čega su prikazana dva fragmenta dviju molekula fumarne kiseline. Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.



Slika 67. Projekcija kristalne strukture MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM približno duž kristalografske *a*-osi.

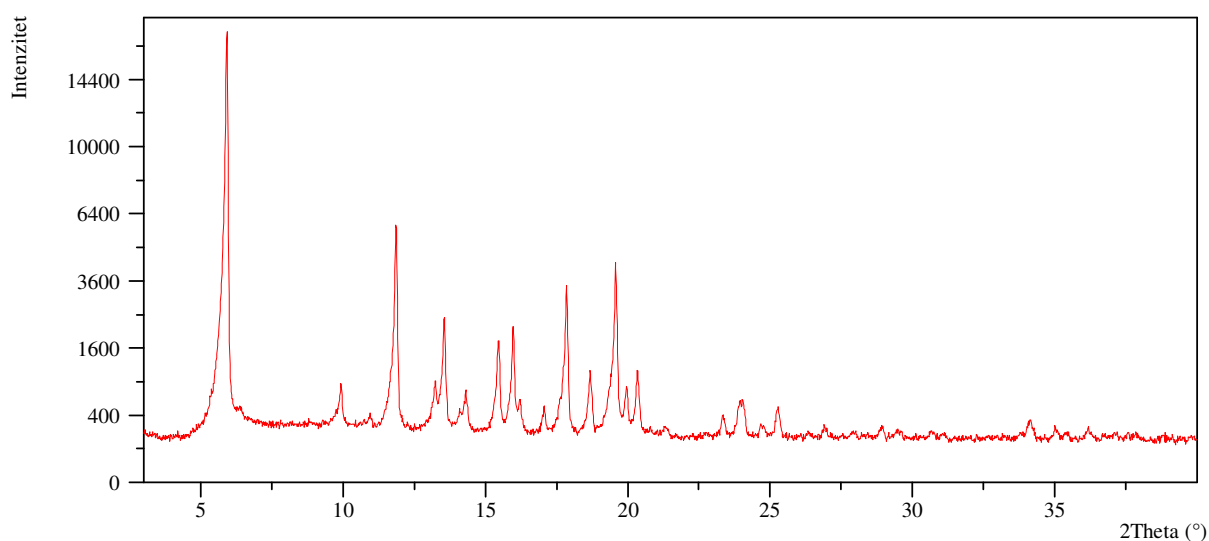


Slika 68. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM.

#### 4.8. 3,5-Dimetiladamantan-1-ilamonijev fumarat (MMN FUM)

Za pripremu MMN FUM molarni omjer baze i kiseline bio je 2 : 1. Pripravljenom uzorku je određen maseni udio 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata, postupkom koji je opisan u odjeljku 3.8.4.3, a maseni udio spomenutog spoja pokazao je da pripremljeni uzorak odgovara fumaratnoj soli memantina (tablica D2).

Direktna kristalizacija iz reakcijske smjese provedena iz *n*-butil-acetata (opisana u odjeljku 3.3.7.2) te kristalizacijski pokusi opisani u poglavlju 3.4 rezultirali su pripremom jedne kristalne forme MMN FUM (slika 69).

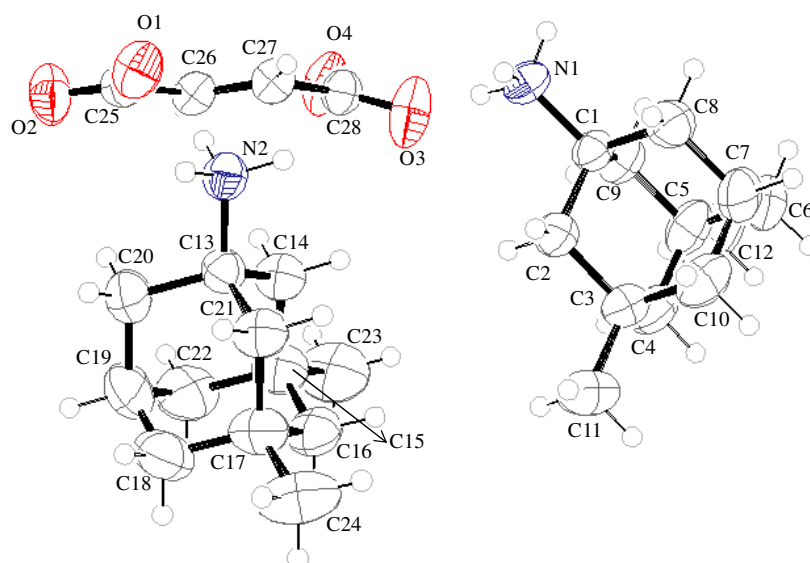


Slika 69. Difraktogram MMN FUM.

Sol MMN FUM termički je stabilna sve do oko 150 °C nakon čega slijedi, prema podacima DSC mjerenja, endotermni proces koji počinje pri 156 °C (slika D19). Kako u tom temperaturnom području, prema rezultatima termogravimetrijske analize, ne dolazi do promjena popraćenih promjenom mase uzorka, spomenuti bi se proces mogao povezati s polimornim prijelazom. Daljnjim zagrijavanjem uzorka soli na temperature iznad 190 °C, sudeći prema TG krivulji, dolazi do razlaganja spoja (slika D19).

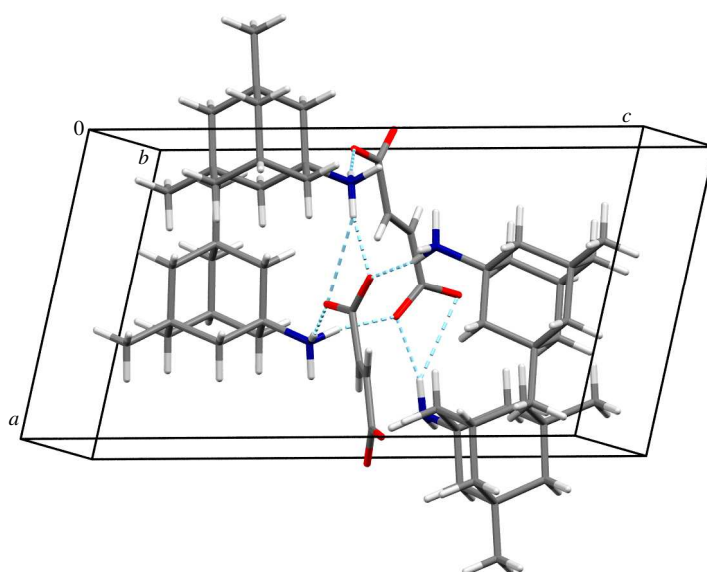
IR spektar MMN FUM (slika D34) sadrži karakterističnu široku vrpcu pri oko 2910  $\text{cm}^{-1}$  koja se i u ovom slučaju može pripisati N–H istezanjima  $-\text{NH}_3^+$  grupe kationa MMN kao i C–H istezanjima adamantanskog dijela molekule memantina.<sup>139</sup> U spektru se uočavaju i vrpce pri 1620  $\text{cm}^{-1}$ , 1540  $\text{cm}^{-1}$ , 1455  $\text{cm}^{-1}$  i 1360  $\text{cm}^{-1}$  koje se mogu pripisati C=C i CO istezanjima fumaratnog aniona, a uočava se i jaka vrpca pri 670  $\text{cm}^{-1}$  koja se može pripisati =CH vibracijama izvan ravnine.<sup>139</sup>

Jedinični kristal MMN FUM pripremljen je prekrizacijom kokristala MMN FUM i fumarne kiseline u smjesi *N,N*-dimetilacetamida i metanola te je određena molekulska i kristalna struktura (tablica D14, slike 70 i 71). MMN FUM kristalizira u monoklinskom sustavu, u prostornoj grupi  $P 2_1$  s dvije formulske jedinice MMN FUM u jediničnoj ćeliji (tablice D14 i D28). Strukturu karakteriziraju slojevite „cik-cak“ mreže vodikovih veza u koje su uključene protonirane amino skupine kationa MMN kao donori vodikove veze te anioni fumarata pri čemu svi kisikovi atomi fumarata imaju ulogu akceptora vodikove veze (slika 72). Strukturu dominiraju diskretni motivi vodikovih veza na način da  $-\text{NH}_3^+$  skupina svih kationa MMN pravi tri vodikove veze s atomima kisika triju aniona fumarata, pri čemu je jedna donorska veza bifurkirana na dva kisikova atoma jednog fumarata.<sup>110-114,140</sup> Svaka karboksilatna skupina aniona fumarata ostvaruje tri akceptorske vodikove veze s  $-\text{NH}_3^+$  grupom tri kationa MMN, uz naglasak da je jedna akceptorska veza bifurkirana na oba atoma kisika karboksilatne grupe.<sup>140</sup>

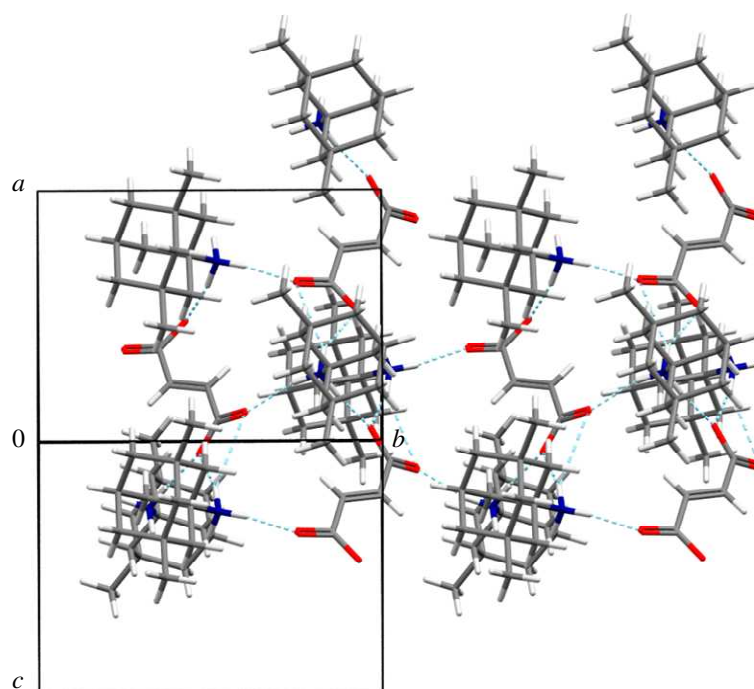


Slika 70. ORTEP prikaz asimetrične jedinice MMN FUM.

Elipsoidi su prikazani s 50 % vjerojatnosti elektronske gustoće.



Slika 71. Projekcija kristalne strukture MMN FUM približno duž kristalografske *b*-osi.



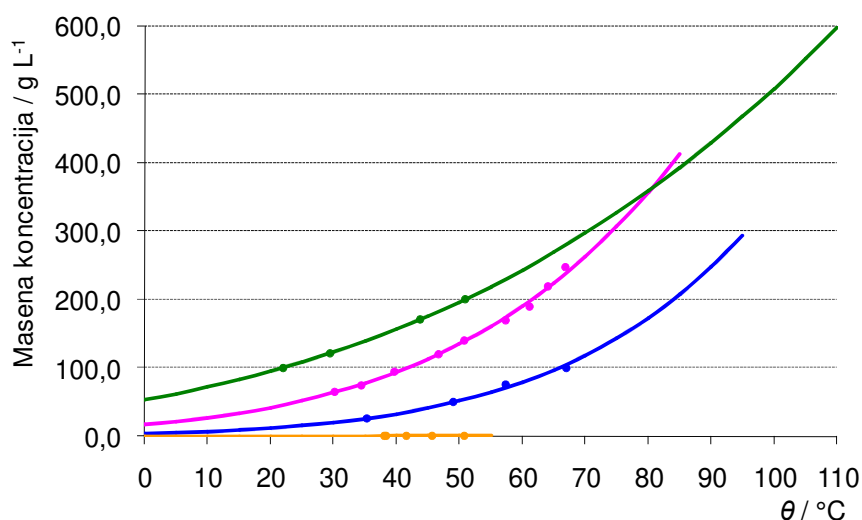
Slika 72. Prikaz povezivanja iona vodikovim vezama u kristalnoj strukturi MMN FUM.

#### 4.9. Topljivosti pripremljenih kristalnih formi soli memantina

Kristalnim formama soli memantina, priređenima u okviru ovog rada, određene su topljivosti u osam različitih otapala (tablice D30, D31 i D32). Uspoređujući međusobne topljivosti pojedinih kristalnih formi soli, može se uočiti da topljivosti u vodi za većinu njih varira od oko  $10 \text{ g L}^{-1}$  do oko  $50 \text{ g L}^{-1}$ , a izdvajaju se MMN DHP · H<sub>2</sub>O, koja je vrlo slabo topljiva dok su MMN MES forma 1 i forma 3 vrlo dobro topljive u vodi. U nižim alkoholima (MeOH i 96 % EtOH) većina pripremljenih kristalnih formi soli memantina je jako dobro topljiva, a izdvajaju se MMN DHP i MMN DHP · H<sub>2</sub>O koje su slabo topljive u MeOH, a u 96 % EtOH gotovo netopljive. Uočava se i slabija topljivost MMN FUM u EtOH. U višem alkoholu, 2-PrOH, uočava se podjela na jako topljive soli (MMN MES i MMN HMAL) te na gotovo netopljive soli (MMN SUL, MMN DHP, MMN MAL i kokristal MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM). Samo je MMN HSUL forma 1 umjereno topljiva u 2-PrOH i usporediva s topljivosti MMN HCl forme I u 2-PrOH. U ostalim ispitanim organskim otapalima (acetone, EtOAc, *n*-heptan, THF) pripremljene kristalne forme soli memantina su netopljive, osim kristalnih formi MMN HMAL. MMN HMAL i MMN · H<sub>2</sub>O su gotovo netopljive u etil-acetatu i *n*-heptanu, no, ipak pokazuju slabu topljivost u acetone. Zanimljivo je istaknuti kako je MMN HMAL · H<sub>2</sub>O jako topljiv u THF, dok je u istom otapalu MMN HMAL umjereno topljiva, a sve ostale soli memantina su gotovo netopljive.

Općenito, može se uočiti loša topljivost kristalnih formi MMN DHP, a uspoređujući topljivosti pripremljenih kristalnih formi priređenih soli memantina s topljivosti MMN HCl forme I u odabranom nizu otapala, MMN HSUL forma 1 pokazuje najslabije ponašanje (tablice D30, D31 i D32). Ostale priređene soli, odnosno njihove kristalne forme pokazuju određena odstupanja u topljivosti u odnosu na MMN HCl formu I.

S obzirom da je MMN HSUL forma 1 podvrgnuta razvoju procesa prekrizalizacije određene su krivulje topljivosti u nekoliko otapala (slika 73, tablica 12).



Slika 73. Usporedba krivulja topljivosti MMN HSUL forme 1 u odabranim otapalima (zeleno – 1-butanol, ljubičasto – 2-propanol, plavo – 2-butanol, žuto – acetone).

Tablica 12. Jednadžbe krivulja topljivosti MMN HSUL forme 1 u odabranim otapalima.

OTAPALO	JEDNADŽBA KRIVULJE TOPLJIVOSTI
<b>2-PrOH</b>	Masena koncentracija = $e(16,2999-3679,0566/(\theta+273))$
<b>1-BuOH</b>	Masena koncentracija = $e(12,3861-2295,1165/(\theta+273))$
<b>2-BuOH</b>	Masena koncentracija = $e(18,1716-4594,8367/(\theta+273))$
<b>ACETON</b>	Masena koncentracija = $e(11,937-3812,6847/(\theta+273))$

Na temelju određenih topljivosti te konstruiranih krivulja topljivosti u odabranim otapalima MMN HSUL forme 1 (slika 73, tablice 12 i D30), kao najpovoljnije otapalo za prekrizalizaciju odabran je 2-propanol uz *n*-heptan kao *antiotapalo*. Stoga su određene topljivosti MMN HSUL forme 1 u smjesama 2-propanola i *n*-heptana u omjeru 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 i 1 : 4 pri sobnoj temperaturi (tablica 13).

Tablica 13. Topljivost MMN HSUL forme 1 u smjesi 2-propanola i *n*-heptana različitih omjera pri sobnoj temperaturi.

2-PROPANOL : <i>n</i> -HEPTAN	TOPLJIVOST / g L <sup>-1</sup>
1 : 1	19,3 – 24,0
1 : 2	9,3 – 10,9
1 : 3	4,6 – 5,7
1 : 4	1,8 – 2,8



Kao najpogodniji sustav otapala za prekrizaciju MMN HSUL forme 1 odabrana je smjesa 2-propanola i *n*-heptana u omjeru 1 : 2 pri čemu se krutina izolira pri temperaturama između 0 °C i 5 °C uz iskorištenje procesa od 88 %.

#### **4.10. Higroskopnosti pripremljenih kristalnih formi soli memantina**

Pripremljenim kristalnim formama soli memantina određena je higroskopnost prema napatku Europske Farmakopeje (tablica D33). Većina pripremljenih kristalnih formi soli memantina ne navlači vlagu, odnosno drugim riječima nije higroskopna. Izdvajaju se kristalne forme MMN DHP i MMN DHP · H<sub>2</sub>O koje su obje higroskopne, a uočeno je da MMN DHP u navedenim uvjetima prelazi u hidratnu formu, odnosno MMN DHP · H<sub>2</sub>O o čemu je bilo rečeno u odjeljku 4.3. I sol MMN HMAL je higroskopna te također u navedenim uvjetima prelazi u odgovarajući hidrat, MMN HMAL · H<sub>2</sub>O što je opisano u odjeljku 4.5. Za kokristal MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM utvrđeno je da je slabo higroskopna.

#### **4.11. Usporedba svojstava pripremljenih kristalnih formi soli memantina i odabir najpogodnije alternativne soli memantina**

Kako bi se utvrdilo koja je od pripremljenih soli memantina najbolja alternativa prethodno formuliranoj soli MMN HCl (forma I), svojstva pripremljenih soli memantina kao i njihovih kristalnih formi uspoređena su međusobno te s MMN HCl formom 1. MMN SUL · 3 (2-PrOH) odbačena je zbog izrazite nestabilnosti na zraku. MMN MAL forma 2 također je odbačena kao moguća alternativa, jer ju nije bilo moguće pripremiti u zadovoljavajućem iskorištenju. Nadalje sinteza MMN MAL forme 1 nije bila reproducibilna te je odbačena kao mogući kandidat. Zbog male topljivosti odbačene su i soli MMN FUM, MMN DHP te MMN DHP · H<sub>2</sub>O. U slučaju MMN DHP dodatna otežavajuća okolnost je činjenica da sol stajanjem pri ambijentalnim uvjetima prelazi u svoju hidratnu formu, MMN DHP · H<sub>2</sub>O. Iz sličnog razloga i hidrogenmaleatne soli, MMN HMAL i MMN HMAL · H<sub>2</sub>O nisu predstavljale dobre alternativne kandidate. Nadalje kod formi MMN SUL soli, sušenjem odnosno izlaganjem određenim uvjetima vlage bilo je teško kontrolirati maseni udio vode u uzorcima. Kristalne forme MMN MES imaju veću topljivost od MMN HCl forme I što nije povoljno, a ujedno dobivanje cikloheksan solvata i forme 2 MMN MES nije bilo reproducibilno. MMN MES forma 3 dobivena je samo grijanjem MMN MES forme pri oko 130 °C, što nije pogodna

karakteristika spoja čije se uvećanje procesa proizvodnje razmatra. Iako je pojava kokristala sve češća u farmaceutskoj industriji, jer često imaju bolja fizikalno-kemijska svojstva u odnosu na formuliranu aktivnu tvar, u slučaju kokristala MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM to nije bio slučaj. Naime kokristal MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM pokazuje nešto slabiju topljivost od MMN HCl forme I, što nije pogodno te uzevši u obzir da je udio aktivne tvari u kokristalu manji nego u samoj soli, niti ovaj spoj nije odabran kao povoljna alternativa. Konačno, MMN HSUL forma 1 uvjerljivo se nametnula kao najbolji odabir zbog nekoliko razloga. Među njima treba istaknuti kako ima sličnu topljivost kao i MMN HCl forma I, nije higroskopna, stabilna je, dobiva se u obliku pločastih (laminarnih) kristala, morfološki boljih svojstava od igličastih kristala MMN HCl forme I.

## 4.12. Razvoj i optimiranje postupka pripreme MMN HSUL forme 1

### 4.12.1. Odabir otapala

S ciljem uvećanja procesa, razvijen je i optimiran postupak pripreme MMN HSUL forme 1. Inicijalni sustav otapala koji je korišten za pripravu MMN HSUL forme 1 bila je smjesa toluena i acetona (odjeljak 3.3.1.1). No, uočeno je da kristali MMN HSUL forme 1 pripremljeni iz smjese tih otapala poprimaju tijekom sušenja žutu boju, neovisno o temperaturi sušenja. Na temelju literaturnih podataka, pretpostavljeno je da dolazi do reakcije acetona i sumporne kiseline pri čemu nastaje 4-metilpent-3-en-2-on, trivijalno, mesitil oksid i/ili 1,3,5-trimetilbenzen, trivijalno, mesitilen koji utječu na boju tijekom sušenja.<sup>141,142</sup> Prekristalizacija takvog sirovog materijala iz acetona ili iz sustava koji sadrži aceton ponovno je, tijekom sušenja, rezultirala pojavom žućkasto obojenih kristala. Suprotno tome, prekristalizacijom žućkasto obojenog materijala iz 2-propanola i nakon sušenja kristala, dobiveni su bezbojni kristali. Vodeći se spomenutim rezultatom sustav otapala za pripravu MMN HSUL forme 1 promijenjen je u smjesu 2-propanola i toluena (odjeljak 3.6.1.b). Doduše, i u ovom je slučaju pri izolaciji i sušenju materijala MMN HSUL forme 1 pripremljenog iz smjese 2-propanola i toluena uočeno žuto obojenje. No, uočeno se obojenje pojavljivalo u početku sušenja, dok bi daljnjim sušenjem nestalo, pogotovo na višim temperaturama sušenja. Potencijalno objašnjenje je u činjenici kako toluen, korišten u ovom postupku, prema specifikaciji sadrži „onečišćenja koja se boje/tamne sa sumpornom kiselinom“.<sup>143</sup> Važno je istaknuti da je kada je korišten tehnički toluen, kakav se najčešće koristi u proizvodnji, dobiven u potpunosti žuti materijal, koji se tijekom sušenja nije u

cijelosti obezbojio što govori da se takav ne bi smio koristiti u postupku dobivanja MMN HSUL forme 1. Kod pripreme MMN HSUL forme 1 iz smjese 2-propanola i toluena javljao se i problem zaostajanja prevelike, nedozvoljene količine toluena u izoliranom materijalu. Količina ostatnog toluena u izoliranim kristalima kretala se između 1000 i 2500 ppm, što je iznad dozvoljene granice od 890 ppm, dok je ostatni 2-propanol u izoliranom uzorku bio u dozvoljenoj količini, ispod postavljene granice od 5000 ppm i kretao se između 200 i 2800 ppm.<sup>144</sup> Kada je postupak pripreme proveden tako da je sumporna kiselina dodavana pri sobnoj temperaturi, udio ostatnog toluena u izoliranom materijalu se kretao između 1000 i 2500 ppm. Suprotno tome, kada je sumporna kiselina dodavana pri povišenoj temperaturi (40 °C ili 50 °C) ostatni toluen je bio ispod 500 ppm. Stoga je sustav otapala pri pripremi MMN HSUL forme 1 promijenjen u smjesu 2-propanola i *n*-heptana (odjeljak 3.6.1.c). Iz smjese 2-propanola i *n*-heptana dobiveni su bezbojni kristali MMN HSUL forme 1, a u njima je ostatni 2-propanol bio između 1000 i 1500 ppm, a ostatni *n*-heptan ispod 300 ppm što je unutar dozvoljene granice od 5000 ppm.<sup>134</sup> Nadalje, ispitani su i različiti omjeri 2-propanola i *n*-heptana u smjesama koje su korištene za pripravu MMN HSUL forme 1. Tablica 14 pokazuje kako ispitani različiti omjeri 2-propanola i *n*-heptana za pripremu MMN HSUL forme 1 ne utječu na kvalitetu proizvoda već samo na iskorištenje. Iskorištenje raste kako se povećava udio *n*-heptana, sve do omjera 3:1. Daljnje povećanje udjela *n*-heptana ne utječe na iskorištenje. Stoga je zaključeno kako je za pripremu MMN HSUL forme 1 najbolje koristiti smjesu *n*-heptana i 2-propanola u omjeru 3:1.

Prilikom izolacije krutine, odnosno njenog odvajanja od matičnice, potrebno je dobro ukloniti matičnicu koja zaostaje na krutini jer pri tome potencijalno mogu zaostati i onečišćenja koja se nalaze u matičnici. Stoga se u uobičajenom postupku filtriranja, krutina ispere sa svježom količinom otapala. Kako bi se utvrdila koja je smjesa optimalna za ovaj postupak, ispitane su smjese *n*-heptana i 2-propanola različitih omjera (tablica 15). Pokazalo se da različiti ispitani omjeri *n*-heptana i 2-propanola ne utječu niti na kvalitetu niti značajno na iskorištenje proizvoda. Stoga je za ispiranje krutine najbolje koristiti smjesu *n*-heptana i 2-propanola u omjeru 4:1.

Tablica 14. Utjecaj različitih smjesa *n*-heptana i 2-propanola korištenih pri pripravi MMN HSUL forme 1 na odabrane parametre kvalitete i iskorištenje reakcije.

<i>n</i> -HEPTAN : 2-PROPANOL	SREDNJA VELIČINA ČESTICA* / $\mu\text{m}$	OSTATNI <i>n</i> -HEPTAN / ppm	OSTATNI 2-PrOH / ppm	$\eta$ / %
1 : 1	41,2	79	712	71,3
2 : 1	37,4	160	1044	80,3
3 : 1	37,9	140	661	87,3
4 : 1	45,7	264	550	87,3

Tablica 15. Utjecaj različitih smjesa *n*-heptana i 2-propanola korištenih pri ispiranju MMN HSUL forme 1 na odabrane parametre kvalitete i iskorištenje reakcije.

<i>n</i> -HEPTAN : 2-PROPANOL	SREDNJA VELIČINA ČESTICA* / $\mu\text{m}$	OSTATNI <i>n</i> -HEPTAN / ppm	OSTATNI 2-PrOH / ppm	$\eta$ / %
9 : 1	41,7	n/o**	n/o**	86,7
4 : 1	37,9	140	661	87,3

\* FBRM mjerenje, \*\* nije određeno

#### 4.12.2. Odabir količine te uvjeta pri kojima se dodaje 96 % sumporna kiselina

S obzirom na činjenicu da se sol MMN SUL pripravlja sličnim postupkom kao i MMN HSUL, pri čemu razliku predstavlja molarni omjer memantina i sumporne kiseline, ispitan je širok raspon količine 96 % sumporne kiseline. Utvrđeno je da količina sumporne kiseline, u rasponu molarnih ekvivalenata od 0,96 do 1,46, ne utječe na prirodu soli niti na kvalitetu dobivene MMN HSUL forme 1, no utječe na njezino iskorištenje (tablica 16). Kada je u reakciji korišteno 0,96 molarnih ekvivalenata sumporne kiseline u odnosu na memantin, iskorištenje značajno pada. Pretpostavka je da tijekom dokapavanja sumporne kiseline prvo nastaje MMN SUL za čije je dobivanje dovoljno 0,5 molarnih ekvivalenata sumporne kiseline, dok daljnjim dodatkom sumporne kiseline, MMN SUL prelazi u MMN HSUL. Kada nema dovoljno sumporne kiseline za potpunu transformaciju, dobiva se smjesa MMN SUL i MMN HSUL. Pretpostavljeno je da s obzirom na veću topljivost MMN SUL u smjesi 2-propanola i *n*-heptana od MMN HSUL iskorištenje je značajno manje. U slučaju dodatka veće količine sumporne kiseline (1,46 molarnih ekvivalenata), iskorištenje je također smanjeno jer višak tj. neizreagirana kiselina otapa dobivenu MMN HSUL formu 1. Na temelju dobivenih

rezultata zaključeno je kako je najbolje koristiti između 1,0 i 1,1 molarnih ekvivalenata 96 % sumporne kiseline u odnosu na memantin.

Tablica 16. Utjecaj količine 96 % sumporne kiseline na srednju veličinu čestica i iskorištenje reakcije pripreve MMN HSUL forme 1.

MOLARNI EKVIVALENTI 96 % SUMPORNE KISELINE*	SREDNJA VELIČINA ČESTICA** / $\mu\text{m}$	$\eta$ / %
0,96	49,0	70,9
1,01	46,3	86,2
1,11	37,9	87,3
1,25	37,1	86,5
1,46	37,2	82,0

\*\* u odnosu na MMN, \* FBRM mjerenje

Nadalje ispitan je i utjecaj brzine dodatka sumporne kiseline, jer je uočeno da kristalizacija produkta počinje već pri oko 70% dodane sumporne kiseline. Iako rezultati pokazuju kako iskorištenje dobivene MMN HSUL forme 1 ne ovisi značajno o brzini dodatka kiseline, primijećeno je da utječe na srednju veličinu čestica (tablica 17). Bržim dodatkom dobivaju se manji kristali što može biti bitno kada postoji zahtjev za veličinu čestica. Na temelju rezultata je zaključeno kako je najbolje dodati kiselinu brzinom 1,4 mL min<sup>-1</sup>.

Tablica 17. Utjecaj brzine dodatka 96% sumporne kiseline na srednju veličinu čestica i iskorištenje reakcije pripreve MMN HSUL forme 1.

BRZINA DODATKA KISELINE	SREDNJA VELIČINA ČESTICA* / $\mu\text{m}$	OSTATNI <i>n</i> -HEPTAN / ppm	OSTATNI 2-PrOH / ppm	$\eta$ / %
11,4 ml min <sup>-1</sup>	38,7	n/o**	n/o**	89,2
1,4 ml min <sup>-1</sup>	37,9	140	661	87,3
0,8 ml min <sup>-1</sup>	44,8	n/o**	n/o**	87,2

\* FBRM mjerenje, \*\* nije određeno

Na veličinu čestica, pokazalo se, utječe i temperatura pri kojoj se dodaje sumporna kiselina. Na nižim temperaturama zbog manje topljivosti produkta i brže kristalizacije dobivaju se manje čestice (tablica 18). Također se može uočiti i utjecaj na udio ostatnih otapala u izoliranom materijalu. Ukoliko se kiselina dodaje pri višim temperaturama, udio ostatnih

otapala, pogotovo 2-propanola se značajno smanjuje. Zanimljivo je primijetiti i pad iskorištenja kada se kiselina dodaje pri temperaturama višim od 20 °C. Na temelju rezultata je zaključeno kako je kiselinu najbolje dodavati u temperaturnom rasponu od 20 °C do 25 °C.

Tablica 18. Utjecaj temperature pri kojoj se dodaje 96 % sumporna kiselina na srednju veličinu čestica i iskorištenje reakcije pripreme MMN HSUL forme 1.

TEMPERATURA DODATKA KISELINE	SREDNJA VELIČINA ČESTICA* / $\mu\text{m}$	OSTATNI <i>n</i> -HEPTAN / ppm	OSTATNI 2-PrOH / ppm	$\eta$ / %
2,0 °C	29,6	283	1109	87,9
20,0 °C	37,9	140	661	87,3
50,0 °C	53,4	143	184	81,6

\* FBRM mjerenje

Kako bi se spriječilo eventualno nastajanje onečišćenja, važno je ispitati i utjecaj atmosfere na ishod reakcije. Pokazalo se kako priroda atmosfere ne utječe značajno na odabrane parametre kvalitete produkta, kao niti na iskorištenje reakcije (tablica 19). Vodeći se, dakle, ekonomičnošću procesa, zaključeno je kako je postupak najprikladnije provoditi na zraku.

Tablica 19. Utjecaj atmosfere na kvalitetu i iskorištenje reakcije pripreme MMN HSUL forme 1.

ATMOSFERA	SREDNJA VELIČINA ČESTICA* / $\mu\text{m}$	OSTATNI <i>n</i> -HEPTAN / ppm	OSTATNI 2-PrOH / ppm	$\eta$ / %
zrak	37,9	140	661	87,3
dušik	n/a	194	1126	87,2

\* FBRM mjerenje

Tablica 20 pokazuje da nema razlike i utjecaja na kvalitetu i iskorištenje izolira li se krutina MMN HSUL forme 1 pri sobnoj temperaturi ili pri temperaturama koje se kreću između 0 °C i 5 °C. No, ponovno, uzimajući u obzir ekonomičnost procesa, najprikladnije je izolirati krutinu pri sobnoj temperaturi.

Tablica 20. Utjecaj temperature pri kojoj se vrši izolacija MMN HSUL forme 1 na kvalitetu i iskorištenje reakcije pripreme MMN HSUL forme 1.

TEMPERATURA IZOLACIJE	SREDNJA VELIČINA ČESTICA* / $\mu\text{m}$	OSTATNI <i>n</i> -HEPTAN / ppm	OSTATNI 2-PrOH / ppm	$\eta$ / %
0 – 5 °C	n/o**	n/o**	n/o**	87,6
20 – 25 °C	37,9	140	661	87,3

\* FBRM mjerenje, \*\* nije određeno

Za uvećanje procesa i proizvodnju proizvoda gdje svaki korak pripreme traje znatno duže nego u laboratoriju i s obzirom da jedan od početnih koraka ovog procesa uključuje pripremu *n*-heptanske otopine MMN, važno je bilo ispitati njenu stabilnost. Tablice 21 i 22 pokazuju da je koncentracija MMN u *n*-heptanskoj otopini nepromijenjena kroz 14 dana te da su MMN HSUL forme 1 pripremljene iz odgovarajućih otopina zadovoljavajuće kvalitete i iskorištenja. Stoga se može zaključiti da stajanjem *n*-heptanske otopine memantina pri navedenim uvjetima ne predstavlja ograničavajući korak u procesu pripreme MMN HSUL forme 1.

Tablica 21. Koncentracija memantina u *n*-heptanskoj otopini kroz vrijeme čuvana pri različitim temperaturama.

VRIJEME / DAN	KONC. MMN OTOPINE NA 2 – 8 °C / $\text{g L}^{-1}$	KONC. MMN OTOPINE NA 20 – 25 °C / $\text{g L}^{-1}$
0	76	76
4	76	76
11	76	76
14	76	77

Tablica 22. Utjecaj MMN *n*-heptanske otopine nakon 14 dana čuvane pri različitim temperaturama na kvalitetu i iskorištenje reakcije pripreme MMN HSUL forme 1.

MMN otopina čuvana 14 dana	$\eta$ / %
pri 2 – 8 °C	85,5
pri 20 – 25 °C	86,8

Pri uvećanju procesa, mogu se dogoditi i nepredvidivi događaji poput toga da filtracijska oprema nije spremna za filtraciju te da priredena suspenzija mora čekati na filtraciju. Stoga je ispitana stabilnost suspenzije. Tablica 23 pokazuje da produženo miješanje pri temperaturi

izolacije krutine (između 20 °C i 25 °C) ne utječe na kvalitetu proizvoda, ali utječe na iskorištenje postupka. No, ukoliko se nakon produženog miješanja pri sobnoj temperaturi suspenzija ohladi na temperaturu između 0 °C i 5 °C i miješa 2 sata, iskorištenje ponovno postaje usporedivo s onim originalnog postupka.

Tablica 23. Utjecaj trajanja miješanja pri temperaturi izolacije krutine na kvalitetu i iskorištenje reakcije pripreve MMN HSUL forme 1.

<b>TRAJANJE MIJEŠANJA PRI TEMPERATURI IZOLACIJE</b>	<b><math>\eta</math> / %</b>
<b>2 h</b>	87,3
<b>24 h</b>	79,8
<b>24 h</b>	79,2
<b>24 h</b>	78,6
<b>24 h / 20 – 25 °C + 2 h / 0 – 5 °C</b>	85,3

#### **4.13. MMN HSUL forma 1 pripravljena u uvećanom mjerilu**

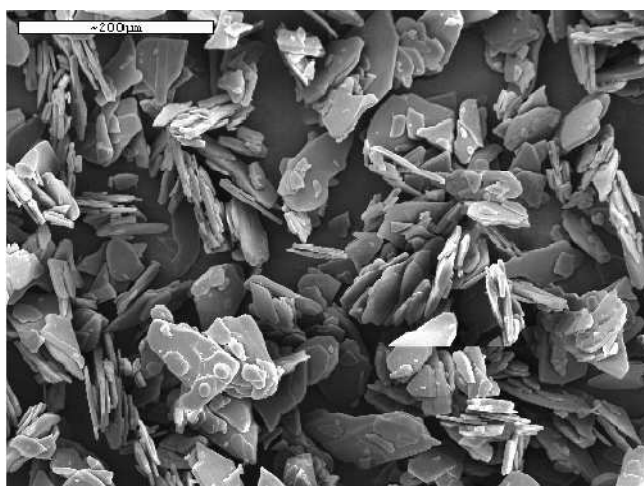
Konačni cilj svakog postupka pripreve u farmaceutskoj industriji je uvećanje procesa te provedba procesa u industrijskom mjerilu. Prilikom uvećanja često se događa, unatoč tome što je proces pripreve detaljno ispitan i optimiran, da se ne postignu zadovoljavajući i očekivani rezultati. Najčešće se događa da podbaci iskorištenje ili da se ne postigne tražena kvaliteta (čistoća, neželjena forma, veličina čestica i slično). Mogući razlozi leže u tome što mnogi procesi poput primjerice grijanja, hlađenja i dodavanja reagensa traju duže nego u uvjetima laboratorijske pripreme (na laboratorijskoj skali). Također važno je uzeti u obzir i različiti dizajn procesnog prostora, različite načine miješanja reakcijske smjese, različita oprema za izolaciju produkta, korištenje otapala i reagensa tehničke kvalitete. Zbog navedenog događa se da proces tijekom uvećanja doživi određene promjene. Laboratorijski pokusi kristalizacije provedeni su u reaktoru od 0,5 L, a proces je zatim ispitan u pilotnom postrojenju u reaktoru volumena 6 L te konačno u industrijskom mjerilu u reaktoru od 1000 L. Kod pripreme MMN HSUL forme 1 na laboratorijskom i pilotnom mjerilu, sumporna kiselina dodavana je bez kontrole temperature već kontrolom brzine dodatka (brzinom oko 1,4 mL min<sup>-1</sup>) što je u industrijskom mjerilu bilo teško kontrolirati pa je uvedena kontrola temperature. Drugim riječima kiselina se dodaje uz održavanje temperature između 20 °C i 35



°C. Iskorištenje procesa pripreme MMN HSUL forme 1 na 1000 L skali nešto je niže u odnosu na pripremu MMN HSUL forme 1 na laboratorijskom ili pilotnom mjerilu što se može tumačiti korištenjem drukčije izolacijske opreme (tablica 24). Dok je MMN HSUL forma 1 pripremljena u laboratoriju i u pilotnom postrojenju filtrirana na Büchnerovom lijevku, MMN HSUL forma 1 pripremljena u industrijskom mjerilu izolirana je u filter sušnici. Ostali parametri kvalitete su unutar željenog područja te se može reći da je konačni cilj ostvaren tj. postupak uvećanja pripreme MMN HSUL forme 1 je uspješno proveden (tablica 24 i slika 74).

Tablica 24. Usporedba rezultata pripreme MMN HSUL forme 1 na laboratorijskom – 0,5 L, pilotnom – 6 L i industrijskom – 1000 L mjerilu.

MJERILO	MMN HSUL	OSTATNI <i>n</i> -HEPTAN / ppm	OSTATNI 2-PrOH / ppm	UDIO VODE U KRISTALIMA	$\eta$ / %
0,5 L	forma 1	140	661	0,18 %	87,3
6 L	forma 1	147	483	0,23 %	87,4
1000 L	forma 1	203	134	0,12 %	78,0



Slika 74. SEM slika kristala MMN HSUL forme 1 pripremljenih u industrijskom mjerilu (1000 L).

## § 5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog rada pripravljena je serija novih soli memantina s farmaceutski prihvatljivim kiselinama: sumpornom, fosfornom, metansulfonskom, maleinskom i fumarnom kiselinom. Pripravljeno je ukupno sedam soli memantina: hidrogensulfatna i sulfatna sol, hidrogenmaleatna i maleatna sol, dihidrogenfosfatna sol, metansulfonatna (mesilatna), fumaratna sol te kokristal fumaratne soli i fumarne kiseline.

Metodama kristalizacije iz otopine, izlaganjem uvjetima definirane vlage i parama otapala, suspendiranjem u otapalu te metodom dehidratacije/desolvatacije grijanjem ukupno je pripremljeno šesnaest kristalnih formi soli memantina:

- dvije kristalne forme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogensulfata, MMN HSUL forma 1 i forma 2 pri čemu je forma 2 stabilna samo pri povišenoj temperaturi;
- dvije kristalne forme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog sulfata, MMN SUL · 4 H<sub>2</sub>O i MMN SUL · 3 (2-PrOH), izrazito nestabilan solvat;
- dvije kristalne forme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog dihidrogenfosfata, MMN DHP i hidrat MMN DHP · H<sub>2</sub>O;
- četiri kristalne forme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog mesilata, MMN MES forma 1, forma 2 i forma 3, dok u strukturu MMN MES · 1/8 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>, zanimljivo ulazi cikloheksan;
- dvije kristalne forme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog hidrogenmaleata, MMN HMAL i hidrat MMN HMAL · H<sub>2</sub>O;
- dvije kristalne forme 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog maleata, MMN MAL forma 1 i forma 2;
- jedna kristalna forma 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata, MMN FUM te
- jedna kristalna forma kokristala 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijevog fumarata i fumarne kiseline, MMN FUM · H<sub>2</sub>FUM.

Trinaest pripremljenih kristalnih formi soli memantina, zajedno s MMN HCl formom I obuhvaćeno je detaljnom karakterizacijom, koja je uključivala ispitivanje termičkih svojstava uzoraka (razlikovnom pretražnom kalorimetrijom i termogravimetrijskom analizom), IR-ATR spektroskopijom, difrakcijom rentgenskog zračenja praškastom i jediničnom kristalu, ispitivanjem topljivosti uzoraka u različitim organskim otapalima i u vodi te ispitivanjem njihove higroskopnosti. Primijećeno je da:

- soli čiju strukturu grade srodni anioni (hidrogensulfat, sulfat i mesilat kao i hidrogenmaleat, maleat i fumarat), se uvelike razlikuju u svojstvima kao i načinu pakiranja njihovih građevnih jedinki u čvrstom stanju;
- za razliku od MMN HSUL, MMN SUL pokazuje veliku sklonost stvaranju solvata;
- kod soli gdje postoji hidratna forma (MMN SUL, MMN DHP i MMN HMAL) ovisno o udjelu relativne vlažnosti i temperaturi postoji reverzibilna transformacija u čvrstom stanju hidratacija/dehidratacija između bezvodne i hidratne forme koja se može postići grijanjem (za dobivanje bezvodne forme) i izlaganjem uvjetima vlage (za dobivanje hidratne forme);
- iako se kristalne strukture pripremljenih soli značajno razlikuju, zajednička im je karakteristika slojevitost. Jedina iznimka je kristalna struktura MMN SUL · 3 (2-PrOH) koja se može opisati kao kanalna struktura.

Usporedbom svojstava pripremljenih soli sa svojstvima MMN HCl forme I, koja se nalazi u formulacijama na tržištu, kao najpogodnija alternativna sol odabrana je MMN HSUL forma 1. MMN HSUL forma 1 je stabilna, nesolvatirana kristalna forma, morfologija njenih kristala je pločasta, nije higroskopna i dobro je topljiva u vodi. Bitno je i istaknuti kako je njezina sinteza isplativa s ekonomskog stajališta jer se može pripremiti u visokom iskorištenju poštujući zadane kriterije kvalitete. Proces kristalizacije za pripremu MMN HSUL forme 1 je uspješno definiran i optimiran. Prepoznato je koji parametri značajno utječu na kvalitetu proizvoda. Utvrđeno je da:

- odabir otapala za pripremu soli značajno utječe na boju krutine – toluen i aceton izazivaju pojavu žuto obojenih kristala, što se pripisuje onečišćenjima, dok se iz smjese 2-propanola i *n*-heptana dobivaju bezbojni kristali;
- brzina kojom se dodaje sumporna kiselina kao i temperatura pri kojoj se dodaje, a utječu na veličinu kristala; sporijim dodavanjem te ako se kiselina dodaje pri višoj temperaturi dobivaju se veći kristali;
- temperatura pri kojoj se dodaje sumporna kiselina utječe i na količinu ostatnih otapala u materijalu, pri većoj temperaturi zaostaje manje ostatnih otapala pogotovo 2-propanola.

Uzevši u obzir sve parametre koji utječu na kvalitetu proizvoda, MMN HSUL forma 1 uspješno je pripravljena na uvećanom, pilotnom mjerilu te u konačnici i na industrijskom mjerilu od 1000 L.

## § 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ

**AB** – Alzheimerova bolest

**1-BuOH** – 1-butanol

**2-BuOH** – 2-butanol

**COX** – eng. *cyclooxygenase*, ciklooksigenaza

**DEGDME** – dietilenglikoldimetil-eter

**DSC** – eng. *differential scanning calorimetry*, diferencijalna pretražna kalorimetrija

**DVS** – eng. *dynamic vapor sorption*, dinamička sorpcija vlage

**EGME** – etilenglikolmonoetil-eter

**EGPhE** – etilenglikolmonofenil-eter

**EtOAc** – etil-acetat

**EtOH, 96 % (96 % EtOH)** – etanol, 96 % (96 % etanol)

**FBRM** – eng. *focused beam reflectance measurement*, mjerenje refleksije fokusiranog snopa

**GRAS** – eng. *generally recognized as safe*, općenito priznato sigurnim

**ICH** – eng. *International Council for Harmonization*, Međunarodno vijeće za usklađivanje tehničkih zahtjeva za lijekove za ljudsku upotrebu

**IR** – eng. *infrared*, infracrveno

**LALLS** – eng. *low-angle laser light scattering*, raspršenje laserskog zračenja pri malim kutevima

**MeOH** – metanol

**MMN** – memantin, 3,5-dimetiladamantan-1-il-amin

**MMN DHP** – memantinium (memantin) dihidrogenfosfat, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev dihidrogenfosfat

**MMN FUM** – memantinium (memantin) fumarat, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev fumarat

**MMN HCl** – memantinium klorid (memantin hidroklorid), 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev klorid

**MMN HMal** – memantinium (memantin) hidrogenmaleat, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogenmaleat

**MMN HSUL** – memantinium (memantin) hidrogensulfat, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev hidrogensulfat

**MMN MAL** – memantinium (memantin) maleat, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev maleat

**MMN MES** – memantinium (memantin) mesilat, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev mesilat

**MMN SUL** – memantinium (memantin) sulfat, 3,5-dimetiladamantan-1-ilamonijev sulfat

***n*-BuOAc** – *n*-butil-acetat

**NMDA** – *N*-metil-D-aspartat

**2-PrOH** – 2-propanol

**PSD** – eng. *particle size distribution*, raspodjela veličine čestica

**PXRD** – eng. *powder X-ray diffraction*, difrakcija rentgenskih zraka na praškastom uzorku

**RV** – relativna vlažnost

**SCXRD** – eng. *single crystal X-ray diffraction*, difrakcija rentgenskih zraka na jediničnom kristalu

**SEM** – eng. *scanning electron microscopy*, pretražna elektronska mikroskopija

**ssNMR** – eng. *solid-state nuclear magnetic resonance*, nuklearna magnetska rezonancija u čvrstom stanju

**THF** – tetrahidrofuran

**TG/TGA** – eng. *thermogravimetric analysis*, termogravimetrijska analiza

**US FDA** – eng. *United States Food and Drug Agency*, Američka agencija za hranu i lijekove

## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. R. S. Wilson, E. Segawa, P.A. Boyle, S.E. Anagnos, L. P. Hizek, D. A. Bennet, *Psychol., Aging* **27** (4) (2012) 1008–1017.
2. Alzheimer's Association, 2018 Alzheimer's disease facts and figures, *Alzheimer's & Dementia* **14** (3) (2018) 367–429.
3. <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2018.pdf> (preuzeto 23.4.2019.).
4. A. E. Budson, P. R. Solomon, Memory Loss, Alzheimer's Disease, and Demetia: A Practical Guide for Clinicians, Second Edition, Chapter 17, Elsevier, 2016.
5. <http://www.pmda.go.jp/english/review-services/reviews/approved-information/drugs/0001.html#select13> (preuzeto 23.4.2019.).
6. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/ebixa#authorisation-details-section> (preuzeto 23.4.2019.).
7. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2003/21-487\\_namenda.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-487_namenda.cfm) (preuzeto 23.4.2019.).
8. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=browseByLetter.page&productLetter=M&ai=0> (preuzeto 26.5.2019.).
9. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/acrescent-epar-refusal-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/acrescent-epar-refusal-public-assessment-report_en.pdf) (preuzeto 26.5.2019.).
10. H. A. Nada, M. S. Al-Saidan, W. B. Mueller, *Pharm. Technol.* **29** (2005) 90–101.
11. N. Rasenack, B. W. Müller, *Int. J. Pharm.* **245** (1-2) (2002) 9–24.
12. N. Pudasaini, P. P. Upadhyay, C. R. Parker, S. U. Hagen, A. D. Bond, J. Rantanen, *Org. Process Res. Dev.* **21** 4 (2017) 571–577.
13. L. Kumar, A. Amin, A. K. Bansal, *Pharm. Technol.* **3** (32) (2008) 128–146.
14. A. T. M. Serajuddin, M. Pudipeddi, Handbook of Pharmaceutical Salts, PH Stahl and CG Wermuth, eds. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002, 135–160.
15. M. J. Bowker, Handbook of Pharmaceutical Salts, PH Stahl and CG Wermuth, eds. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002, 161–189.
16. H. Brittain, Polymorphism in Pharmaceutical Solids, 2nd edition, Informa Healthcare USA, Inc. New York, 2009.

17. R. Hilfiker, Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2006.
18. A. W. Newman, S.R. Byrn, *Drug Delivery Today* **8** (2003) 898 – 905.
19. <https://www.registrarcorp.com/fda-drugs/definitions/> (preuzeto 24.2.2019.).
20. P. H. Stahl, C. G. Wermuth (Eds), Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, VHCA and Wiley-VCH, Zürich, Switzerland and Weinheim, Germany 2002.
21. S. M. Berge, L.M. Bighley, D.C. Monkhouse, *J. Pharm. Sci.* **66** (1) (1977) 1–19.
22. <https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/scogs/default.htm> (preuzeto 24.1.2019.).
23. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=SCOGS&sort=Sortsubstance&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=> (preuzeto 24.2.2019.).
24. G. S. Paulekhun, J. B. Dressman, C. Saal, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 6665–6672.
25. L. D. Bighley, S. M. Berge, D. C. Monkhouse, Salt forms of drugs and absorption in J. Swarbrick, J. C. Boylan, Encyclopaedia of pharmaceutical technology, Vol 13, New York, Marcel Dekker Inc., 1996.
26. P. J. Gould, *Int. J. Pharm.* **33** (1986) 201–217.
27. A. T. M. Serajuddin, *Adv. Drug Del. Rev.* **59** (2007) 603–616.
28. V. Emerton, E. Choi, Essential Guide to Food Additives, Third Edition, Leatherhead Food International Ltd., United Kingdom, 2008.
29. G. V. A. Milne, Pesticides: an international guide to 1800 pest control chemicals, Second Edition, Ashgate Publishing Ltd., United Kingdom, 2004.
30. G. L. Amidon, H. Lennernas, V. P. Shah, J. R. Crison, *Pharmaceutical Research* **12** (3) (1995) 413–420.
31. A. M. Thayer, *Chem. Eng. News* **88** (2010) 13–18.
32. G. A. Stephenson, A. Arurub, T. A. Woods, *J. Pharm. Sci.* **100** (2011) 1607–1617.
33. V. Župan, M. Smrkolj, P. Benkič, I. Simonič, M. Plevnik, G. Ritlop, A. Kristl, F. Vrečer, *Acta Chim. Slov.* **57** (2010) 376–385.
34. T. D. Gross, K. Schaab, M. Ouellette, S. Zook, J. P. Reddy, A. Shurtleff, A. I. Sacaan, T. Alebic-Kolbah, H. Bozigian, *Org. Process Res. Dev.* **11** (2007) 365–377.
35. J. N. Brønsted, *Recueil des Travaux des Pays-Bas* **42** (3) (1923) 718–728.
36. T.M. Lowry, *Journal of the Society of Chemical Industry* **42** (3) (1923) 43–47.

37. J. W. Mullin *Crystallization* 3rd edition, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford 1993.
38. M. A. Reus, A. E. D. M. Van der Heijden, J. H. ter Horst, *Org. Process Res. Dev.* **19** (2015) 1004–1011.
39. M. W. Hermanto, G. He, M. Tjahjono, P.S. Chow, R.B.H Tan, M Garland, *Chem. Eng. Res. Des.* **89** (2011) 2613–2619.
40. J. Vellema, N.G.M. Hunfeld, H.E.A. Van den Akker, J. H. ter Horst, *J. Pharm. Sci.* **44** (2011) 621–626.
41. S. Srisanga, J.H. ter Horst *Cryst. Growth Des.* **10** (2010) 1808–1812.
42. P. Marchand, L. c. Lefebvre, F. Querniard, P. Cardinael, G. Perez, J.-J. Counieux, G. Coquerel, *Tetrahedron: Asymmetry* **15** (2004) 2455–2465.
43. P. Marchand, L. c. Lefebvre, G. Perez, J.-J. Counieux, G. Coquerel, *J. Therm. Anal. Calorim.* **95** (2009) 135–139.
44. J. Cassens, A. Prudic, F. Ruether, G. Sadowski, *Ind. Eng. Chem. Res.* **52** (2013) 2721–2731.
45. J. B. Bogardus, R. K. Blackwood, *J. Pharm. Sci.* **68** (1979) 188–194.
46. L. W. Dittert, T. Higuchi, D.S. Reese, *J. Pharm. Sci.* **53** (1964) 1325–1328.
47. E. Baka, J. E. A. Comer, K. Takács-Novák, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **46** (2) (2008) 335–341.
48. G. Völgyi, E. Baka, K. J. Box, J. E. A. Comer, K. Takács-Novák, *Anal. Chim. Acta* **673** (1) (2010) 40–46.
49. A. Avdeef, *ADMET & DMPK* **3** (2) (2015) 84–105.
50. A. Newman, S. Reutzel-Edens, G. Zografi, *J. Pharm. Sci.* **97** (3) (2008) 1047–1059.
51. S. Nail, *Drugs Pharm. Sci.* **153** (2005) 261–291.
52. N. Koizumi, M. Kouji, S. Itai, *Drug Stability* **1** (1997) 202–208.
53. J. Callahan, G. Cleary, M. Elefant, G. Kaplan, T. Kensler, R. Nash, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **8** (1982) 355–369.
54. Anonymous, Character Section in Monographs. European Pharmacopoeia 5.0, Section 5.11.
55. J. Reijenga, A. Van Hoof, A. Van Loon, B. Teunissen, *Analytical Chemistry Insights* **8** (2013) 53–71.
56. R. J. Bastin, M. J. Bowker, B. J. Slater, *Org. Process Res. Dev.* **4** (2000) 427–435.
57. E.C. Ware, D. R. Lu, *Pharm. Res.* **21** (2004) 177–184.



58. R. M. Everett, G. Descotes, M. Rollin, Y. Greener, J. C. Bradford, D. P. Benziger, S. J. Ward, *Fundam. Appl. Toxicol.* **21** (1993) 59–65.
59. D. Engers, J. Ten, J. Jimenez-Novoa, P. Gent, S. Hossack, C. Campbell, J. Thompson, I. Ivanisevic, A. Templeton, S. Byrn, A. Newman, *J. Pharm. Sci.* **99** (2010) 3901–3922.
60. R. Teraoka, M. Otsuka, Y. Matsuda *J. Pharm. Sci.* **6** (82) (1993) 601–604.
61. H. Y. Ando, R. W Radebaugh, „preformulation“ in Remington The Science and Practice of Pharmacy, II, A. R. Gennaro (Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore), MD, 20 th ed., 2002, pp 700–720.
62. A. M. Healy, Z. A. Worku, D. Kumar, A. M. Madi, *Advanced Drug Delivery Reviews* **117** (2017) 25-46, S. Aitipamula, R. Banerjee, A. K. Bansal, K. Biradha, M. L. Cheney, A. R. Choudhury, G. R. Desiraju, A. G. Dikundwar, R. Dubey, N. Duggirala, P. P. Ghogale, S. Ghosh, P. K. Goswami, N. R. Goud, R. R. K. R. Jetti, P. Karpinski, P. Kaushik, D. Kumar, V. Kumar, B. Moulton, A. Mukherjee, G. Mukherjee, A. S. Myerson, V. Puri, A. Ramanan, T. Rajamannar, C. M. Reddy, N. Rodriguez-Hornedo, R. D. Rogers, T. N. G. Row, P. Sanphui, N. Shan, G. Shete, A. Singh, C. C Sun, J. A. Swift, R. Thaimattam, T. S. Thakur, R. K. Thaper, S. P. Thomas, S. Tothadi, V. R. Vangala, N. Variankaval, P. Vishweshwar, D. R. Weyna, M. J. Zaworotko, *Cryst. Growth Des.* **12** (2012) 2147–2152.
63. S. Datta, D. J. W. Grant, *Nat Rev Drug Discovery* **3** (2004) 42–57.
64. A. Y. Lee, D. Erdemir, A. S. Myerson *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* **1** (2011) 259-280
65. V. M. Sonje, L. Kumar, C. L. Meena, G. Kohli, G. Puri, Profiles of Drug Substance, Excipients and Related Methodology ed. H.G. Brittain, 35 1–70, Amsterdam, Elsevier Acad.
66. V. Uvarov, I. Popov *J. Pharm. Bio. Anal.* **46** (2008) 676–82.
67. M. L. A. D. Lestari, Suciati, G. Indrayanto, H. G. Brittain., Clopidogrel bisulfate. In Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, ed. HG Brittain, Amsterdam: Elsevier Acad. 35 (2010) 71–115.
68. I. Rukhman, E. Flyaks, T. Koltai, J. Aronhime, US7105557B2 (2006).
69. D. E. Braun, T. Gelbrich, V. Kahlenberg, R. Tessadri, J. Wieser, U. J. Griesser, *Cryst. Growth Des.* **9** (2009) 1054–65.
70. L. Yu *Acc. Chem. Res.* **43** (2010) 1257–1266.
71. L. Yu *J. Phys Chem A* **106** (2002) 544–550.

72. S. R. Chemburkar, J. Bauer, K. Deming, H. Spiwek, K. Patel, J. Morris, R. Henry, S. Spanton, W. Dziki, W. Porter, J. Quick, P. Bauer, J. Donaubauber, B. A. Narayanan, M. Soldani, D. Riley, K. McFarland, *Org. Process Res. Dev.* **4** (2000) 413-17; J. Bauer, S. Spanton, R. Henry, J. Quick, W. Dziki, W. Porter, J. Morris, *Pharmaceutical Research* **18** (6) (2001) 859–866.
73. <https://www.drugs.com/fda-alerts/2311-1529.html> (preuzeto 26.5.2019.).
74. M. M. DeVilliers, J. G. van der Watt, A. P. Lotter, *Int. J. Pharm.* **88** (1992) 275–83.
75. B.J. Price, J.W. Ckitherow, J. Bradshaw, US4128658A, 1978.
76. C. O. Agbada, P. York, *Int. J. Pharm.* **106** (1994) 33–40.
77. R. A. Storey, I. Ymén, *Solid State Characterization of Pharmaceuticals*, Blackwell Publishing, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, United Kingdom, 2011.
78. E. Pindelska, A. Sokal, W. Kolodziejski, *Advanced Drug Delivery Reviews* **117** (2017) 111–146.
79. N. J. Babu, S. Cherukuvada, R. Thakuria, A. Nangia, *Cryst. Growth Des.* **10** (2010) 1979–1989.
80. K. D Harris, M. Tremayne, B. M. Kariuki, *Angew. Chem. Int. Ed.* **40** (2001) 1626–1651.
81. R. K. Harris, *Analyst* **131** (2006) 351–373.
82. G. A. Monti, A. K. Chattah, Y. G. Linck, *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* **83** (2014) 221–269.
83. D. E. Bugay, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **48** (2001) 43–65.
84. M. Jamrógiewicz, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **66** (2012) 1–10.
85. B. D. Patel, P. J. Mehta, *Curr. Pharm. Anal.* **6** (2010) 131-141.
86. P. J. Haines, *Thermal methods of Analysis: Principles, Applications and Problems*, Springer Science & Bussiness Media, 2012.
87. R. A. Carlton, *Pharmaceutical Mycroscopy*, Springer, New York, 2011.
88. S. Sheokand, S. R. Modi, A. K. Bansal, *J. Pharm. Sci.* **103** (11) (2014) 3364–3376.
89. H. Masuda, K. Higashitani, H. Yoshoda, *Powder Technology: Fundamentals of Particles, Powder Beds and Particle Generation*, CRC Press, 2007.
90. I. Halasz, A. Puskaric, A. Simon, J. Kimber, P. J. Beldon, A. M. Belenguer, F. Adams, V. Honkimki, R. E. Dinnebier, B. Patel, W. Jones, V. Štrukil, T. Frišćić, *Angew. Chem. Int. Ed.* **52** (2013) 11538–11541.
91. M. Skotnicki, J. A. Aguilar, M. Pyda, P. Hodgkinson, *Pharm. Res.* **32** (2015) 414–429.

92. J. W. Mullin, *Crystallization*, 4th Edition, Butterworth Heinemann, Oxford, United Kingdom, 2001.
93. A. S. Myerson, *Handbook of Industrial Crystallization*, 2nd Edition, Butterworth Heinemann, Woburn, USA, 2002.
94. M. Porru, L. Özkan, *Ind. Eng. Chem. Res.* **56** (20) (2017) 5980–5992.
95. D. O'Grady, *European Pharmaceutical Review* **22** (5) (2017) 66–69.
96. T. Leyssens, C. Baurdy, M. L. Escudero Hernandez, *Org. Process Res. Dev.* **15** (2011) 413–426.
97. R. G. Sparks, C. L. Dobbs, *Part. Part. Syst. Character.* **10** (1993) 279.
98. A. Tadayyon, S. Rohani, *Part. Part. Syst. Character.* **15** (1998) 127.
99. K. Gerzon, E. V. Krumkalns, R. L. Brendle, F. J. Marshall, M. A. Root, *J. Med. Chem.* **6** (1963) 760–763.
100. J. Mills, E. Krumkalns, US3391142 (1968).
101. A. L. Pathi, R. N. Kankan, WO2010007351A1 (2010), J. Bormann, M. R. Gold, W. Schatton US5061703 (1991), A. Scherm, D. Peteri, US4122193 (1978), F. Zhang, M. Hu, L. Zhao, M. Ge, EP1674446A1 (2006), A. Scherm, D. Peteri, DT2318461A1 (1973).
102. H. H. Buschmann, N. Tesson, J. Farran, L. Rafecas, US20110105443A1 (2011), H. H. Buschmann, EP2098500A1 (2008).
103. B. Reisberg, R. Doody, A. Stöffler, F. Schmitt, S. Ferris, H. J. Möbius, *N. Engl. J. Med.* **348** (2003) 1333–1341.
104. G. Rammes, W. Danysz, C. G. Parsons, *Curr Neuropharmacol.* **6** (2008) 55–78.
105. C. G. Parsons, W. Danysz, A. Dekundy, I. Pulte, *Neurotox. Res.* **24** (2013) 358–369.
106. <https://priorart.ip.com/IPCOM/000159896> (preuzeto 20.7.2019).
107. V. Merli, P. Daverio, A. Kovacsne-Mezel, J. Aronhime US7462743B2 (2008).
108. C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot, S. C. Ward, *Acta Cryst.* **B72** (2016) 171–179.
109. W.-J. Lou, X.-R. Hu, J.-M. Gu, *Acta Cryst.* **E65** (2009) o2191.
110. W. D. S. Motherwell, G. P. Shields, F. H. Allen, *Acta Cryst.* **B55** (1999) 1044–1056.
111. J. Bernstein, R. E. Davis, L. Shimoni, N.-L. Chang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34** (1995) 1555–1573.
112. J. Grell, J. Bernstein, G. Tinhofer, *Acta Cryst.* **B55** (1999) 1030–1043.
113. M. C. Etter, J. C. MacDonald, *Acta Cryst.* **B46** (1990) 256–262.
114. M. C. Etter, *Acc. Chem. Res.* **23** (4) (1990) 120–126.

115. M. G. Dedhiya, R. Sarkar, US20090247644A1 (2009), M. G. Dedhiya, R. Sarkar, US20110165252A1 (2011).
116. L. Yuhong, H. Shi, Z. Binhai, P. Wei CN101041622A (2007), A. Scherm, D. Peteri, DT2318461A1 (1973).
117. N. Mittapelly, R. Rachumallu, G. Pandey, S. Sharma, A. Arya, R. S. Bhatta, P. R. Mishra, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **101** (2016) 62–71.
118. H. H. Buschmann EP2098500A1 (2008).
119. V. A. Marchukov, S. A. Selkov, A. N. Chernobrovny, A. V. Seljutin, D. I. Sokolov, EP1759703A1 (2004), V. A. Marchukov, V. G. Platonov, S. A. Selkov, A. N. Chernobrovny, EP1669379B1 (2003), E. Bombardelli, G. Fontana, L. Verotta, WO2004106275A2 (2004), S. S. Chatterjee, C. Erdelmeier, K. Klessing, D. Marme, C. Schächtele EP1056705B1 (1998), S. S. Chatterjee, C. Erdelmeier, K. Klessing, D. Marme, C. Schächtele US6444662B1 (1999).
120. S. Liu, P. Y. Zavalij, Y-F. Lam, L. Isaacs, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 11232–11241.
121. W.-H. Huang, P. Zavalij, L. Isaac, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (26) (2008) 8446–8454.
122. F. J. McInnes, N. G. Anthony, A. R. Kennedy, *Org. Biomol. Chem.* **8** (2010) 765–773.
123. J. Hostas, D. Sigwalt, M. Šekutor, H. Ajani, M. Dubecky, J. Rezac, P. Y. Zavalij, L. Cao, K. Mlinaric-Majerski, L. Isaacs, R. Glaser, P. Hobza, *Chem. Eur. J.* **22** (2016) 17226–17238.
124. V. V. Tkachev, N. S. Thacheva, V. P. Kazachenko, *Zh. Strukt. Khim.* **3** (58) (2017) 615–617.
125. <https://www.crystallizationsystems.com/crystal16> (preuzeto 20.7.2019)
126. X'Pert Software Suite, Version 1.2a, Panalytical B. V., Almelo, The Netherlands.
127. Xcalibur CCD System, CrysAlis Software System, verzija 1.171.33, Oxford Diffraction Ltd. Oxfordshire, England, 2010.
128. G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **A64** (2008) 112.
129. G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **C71** (2015) 3.
130. L. J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.* **45** (2012) 849.
131. C. F. Macrae, I. J. Bruno, J. A. Chisholm, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, M. Towler, J. Van der Streek, P. A. Wood, *J. Appl. Crystallogr.* **41** (2008) 466.

132. POV-Ray – The Persistence of Vision Raytracer, [www.povray.org](http://www.povray.org), (preuzeto 20.7.2019.).
133. Universal Analysis 2000, version 4.7.A, TA Instruments-Waters LLC, USA, 2000.
134. Linksys 32, version 2.3.0; Linkam Scientific Instruments, Ltd., England, 2017.
135. [https://www.edqm.eu/sites/default/files/technical\\_guide\\_for\\_the\\_elaboration\\_of\\_monographs\\_7th\\_edition\\_2015.pdf](https://www.edqm.eu/sites/default/files/technical_guide_for_the_elaboration_of_monographs_7th_edition_2015.pdf) (preuzeto 20.7.2019.).
136. Tiamo™ v.2.2, <https://www.metrohm.com/en/support-and-service/software-center/tiamo/>, (preuzeto 20.7.2019.).
137. <https://www.mt.com/int/en/home/library/videos/automated-reactors/Lasentec-FBRM-Method-of-Measurement.html> (preuzeto 20.7.2019.).
138. Spekwin32 – Software for optical spectroscopy, [www.effemm2.de/spekwin](http://www.effemm2.de/spekwin) (preuzeto 20.7.2019.).
139. E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl, W. Simon, Tablice za određivanje strukture organskih spojeva spektroskopskim metodama, SKTH/Kemija u industriji, Zagreb, 1982.
140. I. Rozas, I. Alkorta, J. Elguero, *J. Phys. Chem. A* **102** (48) (1998) 9925–9932.
141. S. M. Kane, R. S. Timonen, M.-T. Leu, *J. Phys. Chem. A* **103** (46) (1999) 9259–9265.
142. S. Nakagura, A. Minegishi, K. Stanfield, *J. Amer. Chem. Soc.* **79** (1957) 1033.
143. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acsreagents.4409> (preuzeto 19.8.2019.).
144. ICH guideline Q3C (R7) on impurities: guideline for residual solvents, Step 4, [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Q3C-R7\\_Document\\_Guideline\\_2018\\_1015.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Q3C-R7_Document_Guideline_2018_1015.pdf), (preuzeto 20.7.2019.).