

SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) **CH**

697 384 B1

(51) Int. Cl.: **B01L 3/06** (2006.01)
C30B 35/00 (2006.01)
C30B 7/00 (2006.01)

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer: 00982/05

(22) Anmeldedatum: 09.06.2005

(24) Patent erteilt: 15.09.2008

(45) Patentschrift veröffentlicht: 15.09.2008

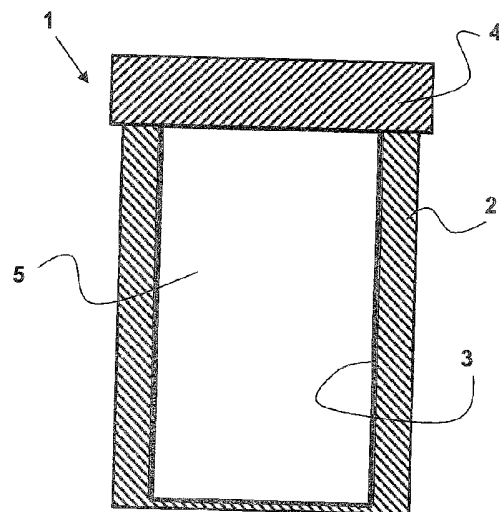
(73) Inhaber:
Bernhard Schneider, Im Hof 11
5073 Gipf-Oberfrick (CH)

(72) Erfinder:
Bernhard Schneider, 5073 Gipf-Oberfrick (CH)

(74) Vertreter:
Spierenburg & Partner AG, Mellingerstrasse 12
5443 Niederrohrdorf (CH)

(54) **System zur Durchführung von Kristallisationsexperimenten mit minimalen Substanzmengen.**

(57) Das System zur Durchführung von Kristallisationsexperimenten mit minimalen Substanzmengen basiert auf modifizierten Mikrotiterplatten und besteht im Wesentlichen aus einer Grundplatte, die mit Mikrogefässen (1) bestückt ist, welche mit einem Verschluss (4) verschliessbar sind. Diese Mikrogefässe (1) sind zur Aufnahme der Testsubstanzen bestimmt und sind aus transparentem Material gefertigt. Die Innenwände der Mikrogefässe (1) weisen eine transparente, hydrophobe Auskleidung (3) auf. Diese Auskleidung (3) ist entweder aus einem aus den Mikrogefässen (1) herausnehmbaren Einsatz, oder durch Bedampfen, Beschichten oder einer chemischen Modifikation der Oberflächen der Innenseiten der Gefässwände (2) gebildet.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein System zur Durchführung von Kristallisationsexperimenten nach dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1.

[0002] Die morphologische Form von chemischen Substanzen, insbesondere pharmazeutischen Wirksubstanzen, hat einen grossen Einfluss auf deren biologische Aktivität. Demzufolge ist die Charakterisierung des festen Zustandes neuer Wirkstoffe eine wichtige Tätigkeit innerhalb der pharmazeutischen Entwicklung. Da zudem unterschiedliche morphologische Formen einer Substanz eigenständige Produkte sind, ist es auch aus wirtschaftlicher Sicht wichtig, möglichst in einer frühen Phase der pharmazeutischen Entwicklung einen Überblick darüber zu erhalten, ob allenfalls verschiedene morphologische Formen existieren.

[0003] Verschiedene morphologische Formen einer Substanz unterscheiden sich in ihren physikalischen Eigenschaften wie zum Beispiel Schmelzpunkt oder Löslichkeit. Ebenso unterscheiden sie sich in ihren Vibrationsspektren (IR, MIR, Raman) und Röntgendiffraktionsspektren. Sofern nur geringe Substanzmengen zur Verfügung stehen, sind die Röntgendiffraktions- und Ramanspektroskopie die experimentell am besten geeigneten Techniken zur Untersuchung, ob verschiedene morphologische Formen vorliegen.

[0004] Eine ebenso wichtige Bedeutung wie die Morphologie auf die physiologische Wirksamkeit einer Substanz hat die Wahl der Gegenionen bei Aktivsubstanzen mit mindestens einer basischen oder sauren funktionellen Gruppe. Oft kann mit einer geeigneten Salzbildung die Löslichkeit der Wirksubstanz stark gesteigert und damit deren physiologische Verfügbarkeit verbessert werden. Dementsprechend werden grosse Anstrengungen unternommen, um innerhalb der Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten möglichst frühzeitig physikalisch-chemische Kenntnisse über die Polymorphie, die Löslichkeit und die chemische Stabilität verschiedener Salze der Wirksubstanz zu erlangen. Auch auf diesem Gebiet sind die Röntgendiffraktions- und Raman-spektroskopischen Methoden gut zur Charakterisierung des festen Zustandes der Salze geeignet.

[0005] Analog zur Salzbildung werden neuerdings auch Anstrengungen unternommen, das Verhalten von Wirksubstanzen durch die Bildung von Co-Kristallen mit geeigneten Kristallisationspartnern zu verbessern.

[0006] Die genannten Untersuchungen werden mittels Kristallisationsexperimenten mit minimalen Substanzmengen durchgeführt. Bekannt sind dafür zum Beispiel Systeme, die Mikrotiterplatten ähnlich sind. Die Kristalle werden entweder durch Abdampfen des Lösungsmittels auf einer Mikrotiterplatte oder durch Filtration der auskristallisierten Lösung auf einer Filterplatte gesammelt und für weitere Analysen zugänglich gemacht.

[0007] Weiter ist eine Vorrichtung mit einer Mikrotiterplatte bekannt, die einen variablen Boden aufweist. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels kann der Boden mit einem geeigneten Werkzeug hochgeschoben werden, so dass die Kristalle auf dem Boden bzw. dessen Rand gesammelt werden, um für weitere Analysen zur Verfügung zu stehen.

[0008] Bekannt ist auch ein Kristallisationssystem mit individuellen Kristallisationszellen, welche aus Glasröhrchen bestehen, die auf einer Mikrotiterplatte angeordnet sind.

[0009] Der Nachteil dieser Systeme ist, dass die Kristalle nach der Auskristallisation aus der Lösung oder dem Abdampfen des Lösungsmittels durch mechanisch aufwändige Vorgänge wie zum Beispiel durch Filtration oder Abkratzen isoliert werden müssen, bevor die Kristalle mit spektroskopischen Methoden analysiert werden können. In der Praxis werden deshalb Kristallisationsexperimente oft direkt in flachen 96er-Mikrotiterplatten durchgeführt, damit die Kristalle anschliessend direkt analysiert werden können. Die Mikrotiterplatten wiederum haben den Nachteil, dass der Verdampfungsprozess des Lösungsmittels nur schlecht kontrolliert werden kann, wodurch die Substanzen meist in amorpher Form anfallen. Aus diesem Grund wurden Verschlussysteme mit Überströmkanälen für Mikrotiterplatten entwickelt, welche eine bessere Kontrolle des Verdampfungs Vorgangs erlauben.

[0010] Eine weitere Möglichkeit, den Kristallisationsprozess besser kontrollieren zu können, besteht in der Verwendung von zylinderförmigen Gefässen mit einer im Vergleich zum Volumen kleinen Öffnung. Verwendet man dabei nicht transparente Materialien wie z.B. Metallhülsen oder Metallblöcke mit Bohrungen, so kann der eigentliche Kristallisationsvorgang optisch bzw. spektroskopisch nicht verfolgt werden. Bei transparenten Materialien wie Glaszylinder kann der Kristallisationsvorgang zwar verfolgt werden. Aufgrund der Materialeigenschaften von Glas verdampft das Lösungsmittel jedoch meist vom oberen Rand der Zylinderöffnung, da die Lösung die überstehende Glaswand benetzt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels sind die Kristalle deshalb nicht wie gewünscht gut geschützt im Innern des Glaszylinders, sondern am oberen Gefässrand, wo sie oft schon durch geringe Erschütterungen abbrechen und in oder gar neben den Glaszylinder fallen.

[0011] Der vorliegenden Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde, ein System zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten bereitzustellen, das die obengenannten Nachteile bekannter Systeme zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten überwindet.

[0012] Diese Aufgabe wird durch ein System mit den Merkmalen des Patentanspruchs 1 gelöst.

[0013] Weitere Vorteile der Erfindung folgen aus den abhängigen Patentansprüchen und aus der nachfolgenden Beschreibung, in welcher die Erfindung anhand eines in einer schematischen Zeichnung dargestellten Ausführungsbeispiels näher erläutert wird.

[0014] Die Figur zeigt den schematischen Aufbau eines Mikrogefässes zur Durchführung von Kristallisationsexperimenten.

[0015] Das Prinzip des erfindungsgemässen Systems zur Durchführung von Kristallisationsexperimenten mit minimalen Substanzmengen basiert auf modifizierten Mikrotiterplatten und besteht im Wesentlichen aus einer Grundplatte, die mit Mikrogefässen 1 bestückt ist, welche mit einem Verschluss 4 verschliessbar sind. Diese Mikrogefässe 1 sind zur Aufnahme der Testsubstanzen bestimmt und sind aus transparentem Material gefertigt. Die Innenwände der Mikrogefässe 1 weisen eine transparente, hydrophobe Auskleidung 3 auf.

[0016] Die Figur zeigt schematisch eine beispielsweise Ausführung eines erfindungsgemässen Mikrogefässes 1, dessen Gefässwände aus einem Glasröhrchen 2 bzw. einem unten geschlossenen Glaszylinder, ähnlich einem Reagenzglas, bestehen. Die Mikrogefässe 1 sind mit einem Verschluss 4 wiederverschliessbar. Das Glasröhrchen 2 ist innen mit einer Auskleidung 3 versehen. Die Auskleidung bildet dabei den eigentlichen Behälter 5 zur Aufnahme der Testsubstanzen, in dem die Kristallisation durchgeführt wird. Die Auskleidung 3 besteht aus einem nicht benetzbaren, transparenten Material, d.h. durch den Glaszylinder 2 und die Auskleidung 3 kann der Kristallisationsvorgang von aussen optisch beobachtet werden. In einer möglichen Ausführung besteht die Auskleidung 3 aus einem herausnehmbaren Einsatz, der aus einem sehr dünnen transparenten, an seinem unteren Ende geschlossenen Teflonzylinder gebildet ist. Der die Auskleidung 3 bzw. den Einsatz umhüllende Glaszylinder 2 gibt der dünnen Hülle der Auskleidung 3 die nötige mechanische Festigkeit. Bei der Verwendung einer genügend stabilen Auskleidung 3 kann der Glaszylinder 2 auch aus einem unten offenen Glasrohr bestehen. Es muss nur sichergestellt sein, dass der Einsatz nicht aus dem Mikrogefäss 1 gleiten kann. Der wiederverschliessbare Verschluss erlaubt die Kontrolle der Verdampfung des Lösungsmittels. Das Mikrogefäss 1 kann auch aus einem anderen Material als Glas sein. Es muss jedoch über einen grossen Wellenlängenbereich – ähnlich wie Glas – transparent sein. Im beschriebenen Beispiel besteht die Auskleidung 3 aus Teflon. Als Auskleidung eignen sich aber auch andere fluoridierte Kunststoffe, oder Polyethylen oder Polypropylen.

[0017] In einer anderen Ausführung wird auf eine in das Mikrogefäss 1 einsetzbare Auskleidung 3 verzichtet. Die Auskleidung 3 der Innenwand des Glasröhrchens 2 wird durch eine geeignete chemische oder physikalische Modifizierung der Innenseite der Glaswand erreicht. Das kann zum Beispiel durch eine Beschichtung oder durch Bedampfen der Glasinnenfläche des Behälters «Liners» erfolgen oder durch eine chemische Behandlung der Glasoberfläche mit bestimmten Silanen (Organohalogensilane). Bei der dabei ablaufenden Reaktion werden die Si-OH-Gruppen an der Glasoberfläche durch das Silan alkyliert, wodurch die ursprünglich polare Oberfläche in hydrophobe, eine wenig benetzbare hydrophile Oberfläche, umwandelt.

[0018] Zur Durchführung eines Mikrokristallisationsexperimentes mit dem erfindungsgemässen System wird folgendermassen vorgegangen:

Zuerst wird die Testsubstanzen, beispielsweise etwa 1 mg, in das Mikrogefäss 1 mit der Auskleidung 3 eingewogen und das Lösungsmittel eingefüllt. Anschliessend wird das Gefäss 1 mit dem Deckel 4 verschlossen. Die Testsubstanzen wird durch Erwärmen der Probe gelöst. Die Vollständigkeit der Auflösung der Testsubstanzen wird mittels Ramanspektroskopie und Videoaufnahme überprüft und dokumentiert. Durch Abkühlen und Abdampfen des Lösungsmittels wird die Testsubstanzen auskristallisiert. Zum Abdampfen des Lösungsmittels wird der Deckel 4 des Behälters entfernt. Am Ende dieses Vorgangs liegt die Substanzen in fester Form im Behälter 5, also innerhalb der Auskleidung 3 des Gefässes 1 vor. Die Polymorphie der Testsubstanzen wird mittels Ramanspektroskopie und Videoaufnahme überprüft, ausgewertet und dokumentiert. Anschliessend kann die Testsubstanzen aus dem Gefäss 1 bzw. der Auskleidung 3 mechanisch entfernt werden, um für weitergehende Analysen wie z.B. X-Ray, Löslichkeitsuntersuchungen, zur Verfügung zustehen.

[0019] Salzbildungs- und Co-Kristallisationsexperimente laufen analog zum beschriebenen Kristallisationsexperimenten ab. Nach der Kontrolle der vollständigen Auflösung der Testsubstanzen wird jedoch in einem zusätzlichen Schritt die zur Salzbildung notwendige Säure bzw. Base oder das für die Co-Kristallisation gewählte Substrat in reiner oder gelöster Form zugegeben. Unter Umständen wird nach dem Auflösen der Säure bzw. der Base oder der zur Co-Kristallisation beabsichtigten Substanzen nochmals eine Kontrolle der vollständigen Auflösung der Substanzen durchgeführt.

Patentansprüche

1. System zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten beinhaltend eine Grundplatte zur Aufnahme von einem oder mehreren Mikrogefässen (1) und Mikrogefässe (1), welche für die Aufnahme einer Testsubstanzen bestimmt sind, wobei die Gefässwände (2) aus transparentem Material gefertigt sind und die Innenwände eine transparente, hydrophobe Auskleidung (3) aufweisen.
2. System zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Auskleidung (3) aus einem aus den Mikrogefässen (1) herausnehmbaren Einsatz gebildet ist.
3. System zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Auskleidung (3) durch eine Modifikation der Oberflächen der Innenseiten der Gefässwände (2) gebildet ist.
4. System zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Innenseiten der Gefässwände (2) durch Bedampfen, Beschichten oder chemisch modifiziert sind.

5. System zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Gefässe (1) eine zylindrische Form aufweisen und verschliessbar sind.
6. System zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikrogefässe (1) Glasröhrchen sind.
7. Verfahren zur Durchführung von Mikrokristallisationsexperimenten mit einem System gemäss Anspruch 1, wobei folgende Schritte der Reihe nach ausgeführt werden:
 - A) Einfüllen der Testsubstanz in das Mikrogefäss,
 - B) Einfüllen des Lösungsmittels,
 - C) Verschliessen des Mikrogefässes,
 - D) Lösen der Testsubstanz,
 - E) Vollständigkeitskontrolle der Auflösung der Testsubstanz,
 - F) Rekristallisation der Testsubstanz,
 - G) Analyse der Testsubstanz,
 - H) Weitergehende Analyse der Testsubstanz.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass ein Zwischenschritt im Anschluss an die Vollständigkeitskontrolle der Auflösung der Testsubstanz (Schritt E) erfolgt, bei dem eine zur Salzbildung notwendige Säure bzw. Base oder das für eine Co-Kristallisation gewählte Substrat in reiner oder gelöster Form zugegeben wird, und dass anschliessend bei Bedarf eine zusätzliche Vollständigkeitskontrolle der Auflösung der beigefügten Säure oder Base oder Substrat erfolgt.

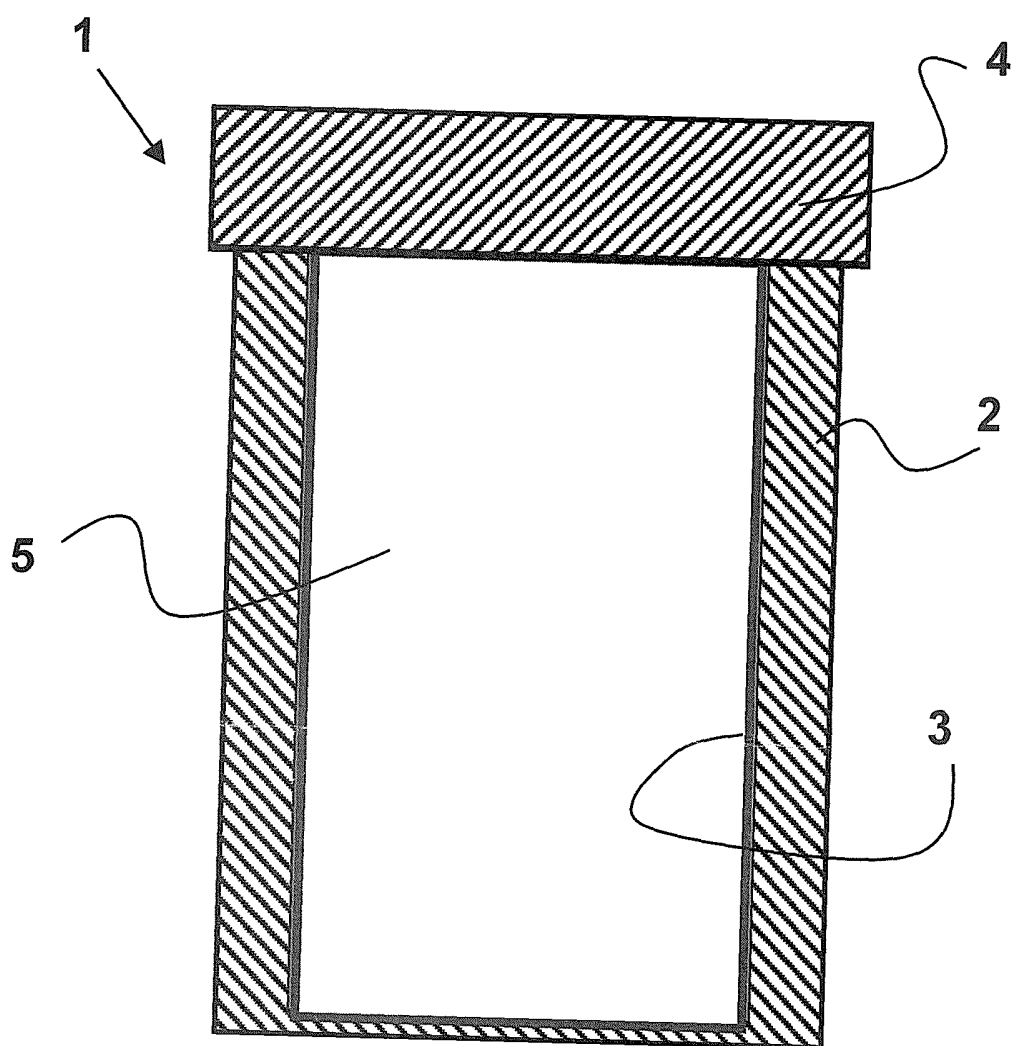


Fig. 1