

ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΥ Ι ΤΗΣ ΑΠΙΞΑΜΠΑΝΗΣ ΣΕ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΑ**Μ. Ψιμάρνης^{1,2}, Μ. Όρκουλα¹, Χ. Κοντογιάννης^{1,2}**¹ Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο, Ελλάδα² Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας/Ινστιτούτο Επιστημών Χημικής Μηχανικής, Πλατάνι Πάτρας, Ελλάδα**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η απιξαμπάνη είναι ένα από του στόματος αντιπηκτικό φάρμακο που χρησιμοποιείται για την πρόληψη και τη θεραπεία του θρόμβου. Η απιξαμπάνη διανέμεται στην αγορά με την μορφή επικαλυμμένων με λεπτό υμένιο δισκίων των 2,5 mg/tab και 5 mg/tab με την εμπορική ονομασία Eliquis® (Pfizer). Στην αγορά δεν υπάρχει σήμερα εμπορικά διαθέσιμο εναιώρημα απιξαμπάνης, επειδή όμως η απιξαμπάνη είναι ένα ελάχιστα υδατοδιαλυτό και διαπερατό φάρμακο, περιορίζοντας τη βιοδιαθεσιμότητά του από το στόμα, υπάρχει ενδιαφέρον ώστε η φαρμακοτεχνική του μορφή να γίνει εναιώρημα για να βελτιώσει τη διαλυτότητα, τη διαπερατότητα, τη βιοδιαθεσιμότητα και την χορήγηση του από το στόμα.

Η απιξαμπάνη ως χημική ένωση εμφανίζει τουλάχιστον 23 διαφορετικά πολύμορφα (άνυδρα, ένυδρα, άμορφα, solvates) με βάση τη βιβλιογραφία, με το θερμοδυναμικά σταθερότερο να είναι το άνυδρο πολύμορφο Ι.

Στην παρούσα μελέτη με τη χρήση κυρίως των αναλυτικών τεχνικών XRPD και Raman, για εναιωρήματα απιξαμπάνης ισχύος 1.25mg/ml, εξετάστηκε η σταθερότητα του πολυμόρφου Ι της δραστικής ένωσης παρουσία διαφορετικών εκδόχων που η χρήση τους είναι συχνή και ενδείκνυται για εναιωρήματα (όπως ρυθμιστικά pH, αντιμικροβιακοί παράγοντες, παράγοντες αιώρησης, βελτιωτικά γεύσης κ.α.). Βρέθηκε ότι το έκδοχο methyl-parabens όταν έρχεται σε επαφή με την απιξαμπάνη σε υδατικό περιβάλλον ευνοεί την μετατροπή της από πολύμορφο Ι σε πολύμορφο V. Η πιθανότερη αιτία της μετατροπής είναι η αλληλεπίδραση δραστικού-εκδόχου με δεσμούς υδρογόνου.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Απιξαμπάνη, Εναιώρημα, Έκδοχα, Parabens, Πολυμορφισμός**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Πολλές οργανικές και ανόργανες ενώσεις σε στερεά κατάσταση, μπορούν να εμφανίζονται σε ποικίλες μορφές, που διαθέτουν πανομοιότυπη χημική σύνθεση, αλλά εμφανίζουν διαφορετικές ιδιότητες. Οι διαφορετικές μορφές που απαντώνται για αρκετές ενώσεις, μπορεί να παρουσιάζουν το φαινόμενο του πολυμορφισμού. Ένας ορισμός για το πολυμορφισμό αναφέρει ότι «πολύμορφα ονομάζονται οι διαφορετικές κρυσταλλικές μορφές, οι οποίες ανήκουν στο ίδιο ή διαφορετικά κρυσταλλικά συστήματα, στα οποία οι πανομοιότυπες μονάδες του ίδιου στοιχείου ή οι πανομοιότυπες μονάδες της ίδιας ένωσης ή οι πανομοιότυπες ιονικές μορφές ή οι πανομοιότυπες επαναλαμβανόμενες μονάδες πακετάρονται με διαφορετικό τρόπο»[1-2].

Τα διαφορετικά πολύμορφα μίας χημικής ένωσης διαθέτουν διαφορετικές ιδιότητες, καθώς κάθε κρυσταλλική μορφή αποτελεί μία ξεχωριστή φάση. Μεταξύ των διαφορετικών πολυμόρφων παρατηρούνται διαφορές στις φυσικές ιδιότητες, στις χημικές ιδιότητες, και στις επιφανειακές ιδιότητες τους [2]. Στην περίπτωση της δραστικής ένωσης ενός φαρμακευτικού σκευάσματος (Active Pharmaceutical Ingredient, API) η ύπαρξη διαφορετικών πολυμόρφων των συστατικών του, μπορεί να επηρεάσει τη σταθερότητά του, να οδηγήσει σε διαφορετικό ρυθμό διαλυτοποίησης της δραστικής ή αλλαγές στη ικανότητά του να μετακινείται διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών. Όλα

αυτά έχουν σαν επακόλουθο, να μεταβάλλεται η βιοδιαθεσιμότητα της δραστικής και να επηρεάζεται η ποιότητα και η αποτελεσματικότητά του. Σημαντικό είναι να αναφερθεί, πως ένας ακόμα λόγος που η επιλογή του κατάλληλου πολυμόρφου αποτελεί καθοριστικό βήμα στην ανάπτυξη ενός νέου φαρμακευτικού σκευάσματος, είναι η προστασία του από δίπλωμα ευρεσιτεχνίας. Ο Αμερικανικός Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (U.S. FDA) και ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (EMA) αναγνωρίζοντας τη σημασία των πολυμόρφων απαιτούν μαζί με τα υπόλοιπα αναγκαία έγγραφα ενός φαρμακευτικού σκευάσματος να υπάρχουν και μελέτες που να αποδεικνύουν την στερεά κατάσταση του API του προϊόντος [3].

Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές χαρακτηρισμού των πολυμόρφων είναι οι φασματοσκοπικές τεχνικές, όπως είναι η Φασματοσκοπία Raman και η Φασματοσκοπία Υπερύθρου (IR), οι οποίες στηρίζονται στις συχνότητες δόνησης των μορίων εντός του κρυσταλλικού πλέγματος, η Φασματοσκοπία Μαγνητικού Πυρηνικού Συντονισμού Στερεής Κατάστασης (ssNMR), η οποία βασίζεται στο φαινόμενο του μαγνητικού συντονισμού των πυρήνων των ατόμων των μορίων, η Περίθλαση Ακτίνων-Χ Κόινωσης (XRPD), που στηρίζεται στις διαφορετικές διευθετήσεις του κρυστάλλου στο χώρο και οι τεχνικές θερμικής ανάλυσης, όπως η Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC) και η Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (TGA), που χαρακτηρίζονται από αλλαγές της μάζας ή της ροής θερμότητας [4].

Η απιξαμπάνη (APX) χρησιμοποιείται συχνά για τη θεραπεία των ατόμων με κολπική μαρμαρυγή για τη μείωση του κινδύνου εγκεφαλικού που προκαλείται από θρόμβο αίματος, για τη θρομβοπροφύλαξη μετεγχειρητικής χειρουργικής ισχίου και γόνατος και για τη θεραπεία φλεβικής θρόμβωσης και πνευμονικής εμβολής. Η απιξαμπάνη διανέμεται στην αγορά με την μορφή επικαλυμμένων με λεπτό υμένιο δισκίων των 2,5 mg/tab και 5 mg/tab με την εμπορική ονομασία Eliquis®, Pfizer [5]. Δεν υπάρχουν επί του παρόντος στην αγορά εγκεκριμένα σκευάσματα εναιωρημάτων του φαρμάκου, υπάρχει όμως αυξημένο ενδιαφέρον γύρω από την παρασκευή εναιωρημάτων του φαρμάκου είτε για να μπορεί να χορηγηθεί μέσω σωλήνων τροφοδοσίας, είτε για να είναι πιο εύληπτο από τους ασθενείς (μεγάλης ηλικίας άτομα-δυσκολία κατάποσης).

Από τη βιβλιογραφική αναζήτηση σε διπλώματα ευρεσιτεχνίας και δημοσιεύσεις προκύπτει ότι έχουν καταγραφεί περισσότερα από 49 πολύμορφα της απιξαμπάνης (άνυδρα, ένυδρα, άμορφα, solvates) με πολλά από αυτά όμως να περιγράφουν το ίδιο πολύμορφο με διαφορετική ονομασία. Μια μελέτη του 2018 προσπαθώντας να ξεδιαλύνει το παζλ των πολυμόρφων της απιξαμπάνης τα κατηγοριοποιεί σε 23 διαφορετικά πολύμορφα. Στη παρούσα μελέτη τα πολύμορφα που εστιάζουμε είναι το θερμοδυναμικά σταθερότερο άνυδρο πολύμορφο I και το ένυδρο πολύμορφο V [6]. Τα έκδοχα αν και είναι αδρανή φαρμακευτικά συστατικά χρησιμοποιούνται στα φαρμακευτικά προϊόντα για τη ρύθμιση των ιδιοτήτων του τελικού προϊόντος. Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι μελέτες που αξιολογούν την συμβατότητα του εκδόχου με ένα API είναι απαραίτητο να γίνονται κατά το σχεδιασμό ενός φαρμακευτικού προϊόντος [7].

Κατά την διάρκεια της ανάπτυξης ενός πρότυπου πειραματικού εναιωρήματος απιξαμπάνης ισχύος 1.25mg/ml παρατηρήθηκε η μεταβολή του άνυδρου πολυμόρφου I της δραστικής ένωσης σε ένυδρο πολύμορφο V στις διάφορες μελέτες σταθερότητας που πραγματοποιήθηκαν σε παρτίδες εναιωρημάτων.

Στόχος της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας αποτέλεσε η εύρεση κατάλληλης αναλυτικής τεχνικής για την διάκριση των δύο πολύμορφων αλλά και της αιτίας της μετατροπής του πολυμόρφου της απιξαμπάνης στο εναιώρημα.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Υλικά

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης για την πραγματοποίηση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν, τα δύο καθαρά πολύμορφα I και V της δραστικής ουσίας απιξαμπάνης και τα έκδοχα Sucralose,

Peppermint, Acesulfame Potassium, Sodium Benzoate, Methyl-Paraben, Propyl-Paraben, Sodium Metabisulfite, EDTA, Saccharin Sodium, Povidone, Xanthan Gum, Sodium Citrate dihydrate, Citric Acid Anhydrous από τα οποία παρασκευάστηκαν τα τελικά εναιωρήματα με ισχύ 1.25 mg/mL.

Πειράματα Σταθερότητας

Αρχικά παρασκευάστηκαν τα buffer διαλύματα με pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 χρησιμοποιώντας Sodium Citrate dihydrate και Citric Acid Anhydrous και σε 100ml από αυτά αιωρήθηκαν 125mg απιξαμπάνης με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα (Hanna HI 190M, Hanna Instruments Ltd, Leighton Buzzard, Ηνωμένο Βασίλειο) χρησιμοποιώντας γυάλινο περιέκτη με αεροστεγές καπάκι και μαγνητική ράβδο, σε 500 στροφές ανά λεπτό (RPM) για 60 λεπτά. Επιπλέον, παρασκευάστηκαν διαλύματα με κάθε έκδοχο διαλυμένο σε νερό όπου με την ίδια διαδικασία όπως παραπάνω σε 100ml από καθένα από αυτά αιωρήθηκαν 125mg απιξαμπάνης.

Φυγοκέντρηση

Εξαιτίας της χαμηλής συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας στα εναιωρήματα, 40 mL εναιωρήματος απιξαμπάνης φυγοκεντρήθηκαν σε θερμοκρασία 25°C με ταχύτητα περιστροφής 8000 rpm για 23 λεπτά (Heraeus Biofuge Stratos, Kendro, Osterode, Germany) και οι μετρήσεις γίνανε στο ίζημα που λήφθηκε μετά την φυγοκέντρηση και στο οποίο η συγκέντρωση της δραστικής ήταν αυξημένη.

Περίθλαση Ακτίνων-Χ Κόνεως (XRPD)

Για τις αναλύσεις των δειγμάτων με Περίθλαση Ακτίνων-Χ Κόνεως (XRPD), έγινε χρήση του περιθλασιμέτρου κόνεως (D2 Phaser 2nd Gen, Bruker, Karlsruhe, Germany), το οποίο εφαρμόζει γεωμετρία Bragg-Brentano και περιέχει ανιχνευτή LynxEye. Ως πηγή ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε η μετάπτωση Kα του Cu που εκπέμπει ακτινοβολία με $\lambda = 1.540562 \text{ \AA}$. Η ένταση του ρεύματος και η τάση στο όργανο ήταν στα 10 mA και στα 30 kV, αντίστοιχα. Η σχισμή της πηγής (primary divergence slit) ρυθμίστηκε στα 0.6 mm και η σχισμή της σκέδασης αέρα (air scatter screen) στα 3 mm. Το μέγεθος του βήματος ορίστηκε στις $0.02^\circ (2\theta)$ και το εύρος γωνίας καταγραφής ρυθμίστηκε από 4° έως $40^\circ (2\theta)$ με χρόνο παραμονής σε κάθε βήμα 0.5 s. Το προς εξέταση δείγμα, το οποίο ήταν σε μορφή σκόνης τοποθετήθηκε σε δειγματοφορέα από πολυμερές, (poly(methyl methacrylate) - PMMA) και πακτώθηκε με τη βοήθεια υάλινης αντικειμενοφόρου πλάκας.

Φασματοσκοπία micro-Raman

Για τις αναλύσεις των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία micro-Raman όπου έγινε χρήση του φασματομέτρου micro-Raman LabRam HR Evolution (Horiba Scientific, Longjumeau, Γαλλία). Για την παρατήρηση επιλέχθηκε αντικειμενικός φακός 50x, επιλέχθηκε πηγή ακτινοβολίας laser στην πράσινη περιοχή (532 nm) με ονομαστική ισχύ 100 mW, η έντασή του ρυθμίστηκε στο 25% της ισχύος, ενώ το οπτικό φράγμα ορίστηκε στα 600 gratings/mm (100 nm). Τα φάσματα καταγράφηκαν με χρόνο έκθεσης τα 1s, ενώ ήταν το αποτέλεσμα 3 σαρώσεων. Το λογισμικό LabSpec⁶ (Horiba Scientific, Longjumeau, Γαλλία) χρησιμοποιήθηκε για την καταγραφή των φασμάτων.

Μία ποσότητα δείγματος απλώθηκε σε επιχρυσωμένο πλακίδιο υψηλής ανακλαστικότητας με τη χρήση σπάτουλας. Σε μία περιοχή του δείγματος, επιφάνειας $420 \times 480 \mu\text{m}^2$, καταγράφηκαν φάσματα και ανιχνεύθηκαν αυτόματα 2016 σωματίδια από το λογισμικό ParticleFinderTM (Horiba Scientific, Longjumeau, Γαλλία), τα οποία στη συνέχεια ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το χημειομετρικό μοντέλο διάκρισης CLS (Classical Least Squares).

Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Για τις αναλύσεις των δειγμάτων έγινε χρήση του οργάνου (DSC Q100 V9.8 Build 296, TA Instruments, Newcastle, DE, USA), το οποίο διαθέτει και τη δυνατότητα λειτουργίας ως DSC διαμόρφωσης (modulated DSC), ενώ υπήρχε διαθέσιμη και συσκευή ψύξης του συστήματος με υγρό άζωτο (Liquid Nitrogen Cooling System, LNCS). Το όργανο είχε ακρίβεια στη μέτρηση της θερμοκρασίας $\pm 0.1^\circ\text{C}$, πιστότητα $\pm 0.05^\circ\text{C}$, ευαισθησία 0.2 μW και σχετική διακριτική ικανότητα 2.1°C .

Ποσότητα περίπου 10 mg από το εκάστοτε δείγμα τοποθετούνταν σε δειγματοφορέα αργιλίου, ο οποίος σφραγιζόταν. Ως αέριο για τον καθαρισμό της ατμόσφαιρας του οργάνου από την υγρασία, χρησιμοποιήθηκε άζωτο (N₂). Τα θερμογράμματα καταγράφηκαν σε εύρος θερμοκρασιών 25°C-250°C με ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας 10°C/min.

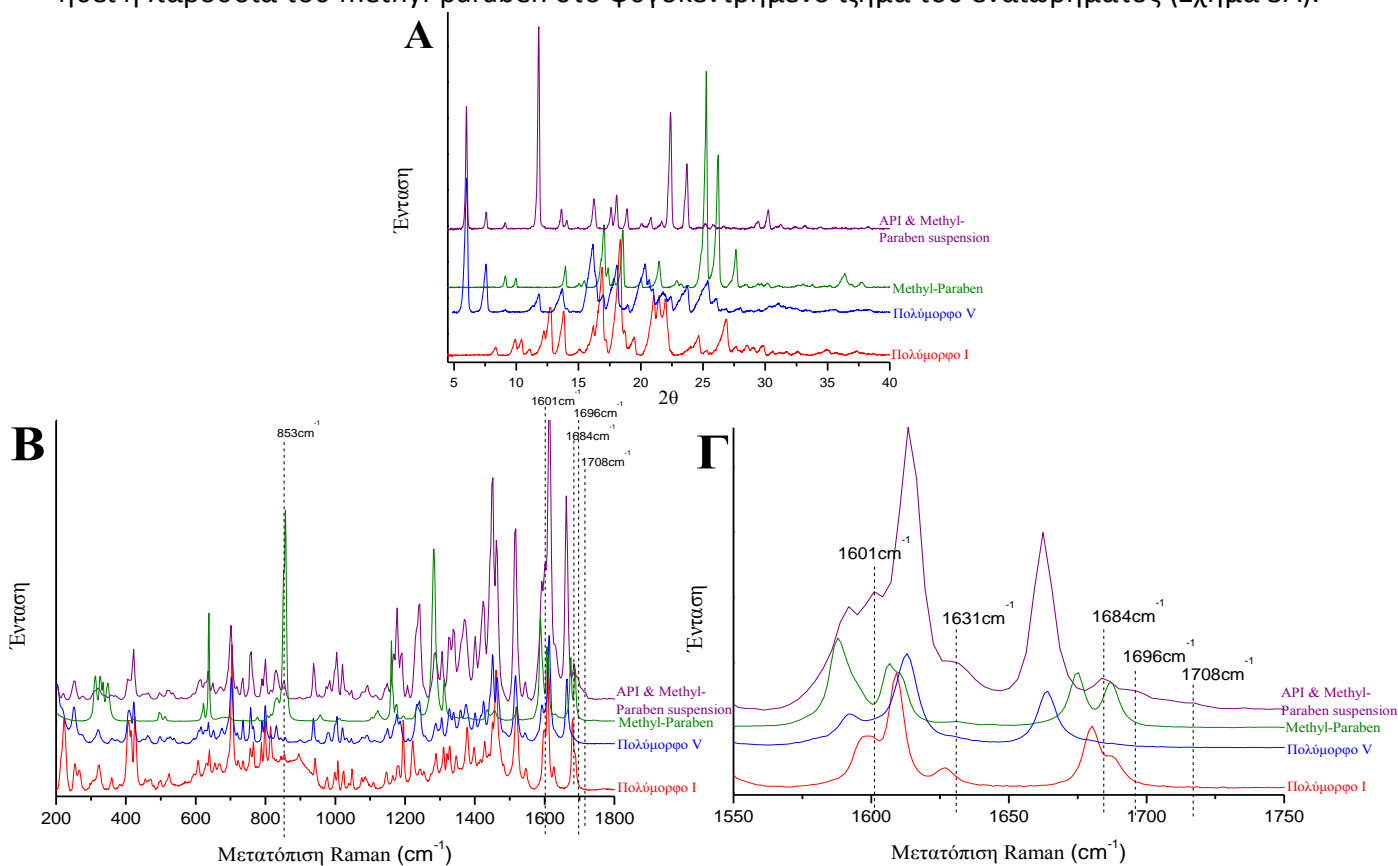
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μελέτη Σταθερότητας του Πολυμόρφου I της Απιξαμπάνης

Για την μελέτη σταθερότητας του Πολυμόρφου I της Απιξαμπάνης εξετάστηκαν οι συνθήκες θερμοκρασίας (5°C έως 105°C) και υγρασίας (60% έως 100% RH) για την δραστική ένωση. Έπειτα, παρασκευάστηκαν εναιωρήματα με pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 (Sodium Citrate dihydrate και Citric Acid Anhydrous εύρος pH 3.0 έως 6.2) ώστε να εξεταστεί αν τυχόν το pH επηρεάζει στη μετατροπή του πολυμόρφου. Επιπλέον, παρασκευάστηκαν εναιωρήματα απιξαμπάνης με το κάθε έκδοχο ξεχωριστά. Όλα τα παραπάνω εναιωρήματα φυγοκεντρήθηκαν προκειμένου να αυξηθεί η συγκέντρωσή τους, το ίζημα τους συλλέχθηκε και αναλύθηκε με την τεχνική Περίθλασης Ακτίνων-Χ Κόινως (XRPD). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων έδειξαν ότι η θερμοκρασία, η υγρασία και το pH στο εύρος από 3.0 έως 6.0 δεν επηρεάζουν το πολύμορφο της απιξαμπάνης και ότι από τα έκδοχα το μόνο που έχει επιρροή στην σταθερότητα του πολυμόρφου της απιξαμπάνης είναι το methyl-paraben.

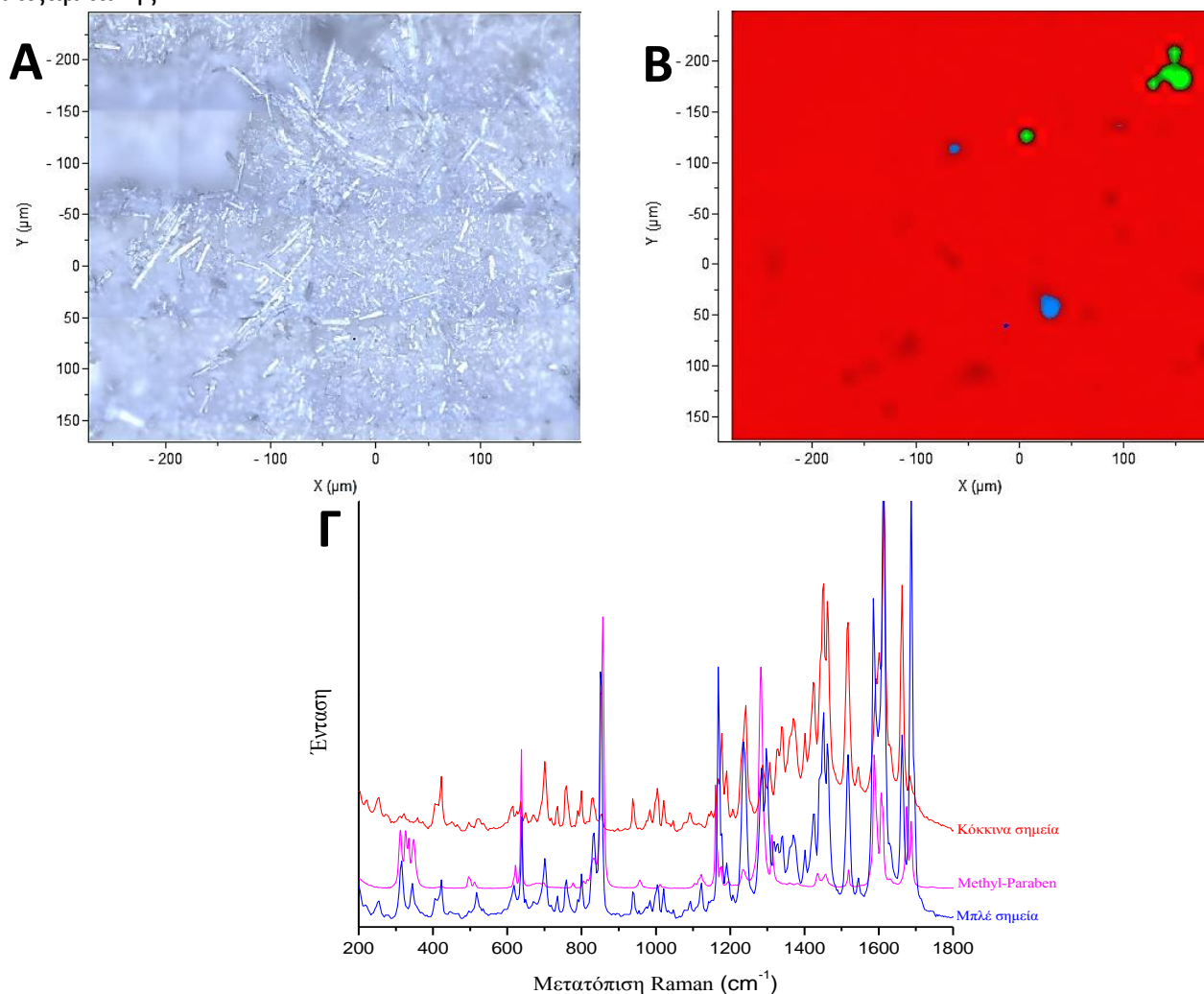
Μελέτη ιζήματος του εναιωρήματος της Απιξαμπάνης σε methyl-paraben με micro-Raman

Προκειμένου να μελετηθεί περαιτέρω η αλληλεπίδραση του methyl-paraben με την απιξαμπάνη χρησιμοποιήθηκε η τεχνική micro-Raman, καθώς με τη τεχνική XRPD δεν ήταν εύκολο να ταυτοποιηθεί η παρουσία του methyl-paraben στο φυγοκεντρημένο ίζημα του εναιωρήματος (Σχήμα 3A).



Σχήμα 1. Ανάλυση του ιζήματος του εναιωρήματος απιξαμπάνης με το methyl paraben, των πολυμόρφων I και V της απιξαμπάνης και του εκδόχου methyl-parabens με τη χρήση (A) Περίθλασης Ακτίνων-Χ Κόινως (XRPD), (B)&(C) Φασματοσκοπίας Raman στην περιοχή 200-1800cm⁻¹ και 1550-1750cm⁻¹ αντιστοίχα

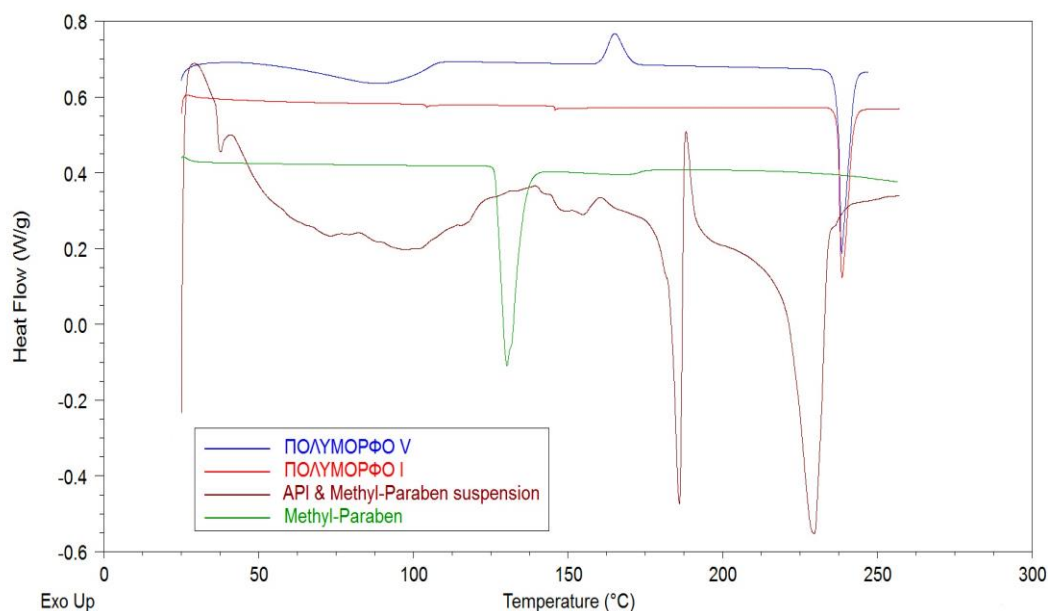
Το XRD έδειξε ότι το ιζημα δεν ήταν άθροισμα του πολύμορφου I και του εκδόχου αλλά ότι η δρα-
στική είχε μετατραπεί σε άλλο πολύμορφο πιθανώς στο πολύμορφο V (Σχήμα 1A) με ταυτόχρονη
παρουσία και άλλων κορυφών που ίσως αντιστοιχούν στο έκδοχο ή σε μια νέα ένωση του εκδόχου
με το πολύμορφο V. Ανάλυση με τη τεχνική micro-Raman έδειξε ότι το φάσμα του ιζήματος της
απιξαμπάνης με το methyl-paraben είναι όμοιο με το φάσμα του πολυμόρφου V της απιξαμπάνης
με μερικές διαφοροποιήσεις στις περιοχές 800cm^{-1} και $1600\text{-}1700\text{cm}^{-1}$ (Σχήματα 1B&1Γ, κάθετες
διάστικτες γραμμές), αποτέλεσμα που δείχνει ότι στο ιζημα δεν υπάρχει καθαρό πολύμορφο V της
απιξαμπάνης.



Σχήμα 2. (A) Εικόνα της περιοχής $420 \times 480 \mu\text{m}^2$ (2016 σημεία) του ιζήματος του ιζήματος απιξαμπάνης με το methyl paraben που έγινε χαρτογράφησή του με Φασματοσκοπία Raman, (B) η ίδια περιοχή χρωματισμένη μόνο με τα αποτελέσματα της χημειομετρικής ανάλυσης (Γ) γράφημα με τα φάσματα των κόκκινων σημείων και των μπλε σημείων

Με το λογισμικό Particle FinderTM έγινε αυτόματη ταυτοποίηση 2016 σημείων του ιζήματος χρησιμοποιώντας ως φάσματα αναφοράς για την ταυτοποίηση τα φάσματα των πολυμόρφων I και V της απιξαμπάνης και του methyl-paraben. Τα αποτελέσματα (Σχήμα 2B) δείχνουν ότι στο ιζημα η πλειοψηφία των σημείων έχει (ως κόκκινο χρώμα στο Σχήμα 2B) ποσοστό αναλογίας που είναι κατά μέσο όρο 92% απιξαμπάνη (πολύμορφο V) και 8% methyl-paraben, ελάχιστα σημεία (ως μπλε χρώμα στο Σχήμα) που είναι κατά μέσο όρο 30% απιξαμπάνη (πολύμορφο V) και 70% methyl-paraben, ενώ ορισμένα (πράσινο χρώμα στο Σχήμα) είναι σημεία που δεν λήφθηκε κάποιο φάσμα κατά την χαρτογράφηση (σφάλματα).

Από τη παραπάνω μελέτη μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι το έκδοχο methyl-paraben αλληλεπιδρά με την απιξαμπάνη προκαλώντας την μετατροπή του πολυμόρφου της από πολύμορφο I στο πολύμορφο V στο εναιώρημα. Επιπλέον, το methyl-paraben ενώ αρχικά είναι διαλυμένο πλήρως στο εναιώρημα όταν έρχεται σε επαφή με την απιξαμπάνη καταβυθίζεται μαζί της και δένεται με αυτήν πιθανώς με δεσμούς υδρογόνου. Αυτό γίνεται κατανοητό διότι το ίζημα που συλλέγεται παρουσιάζει ομοιογενή φασματική εικόνα παντού (Σχήμα 4) περιέχοντας και απιξαμπάνη πολυμόρφου V αλλά και methyl-paraben και όχι διαχωρισμένη δραστική απιξαμπάνη και methyl-paraben μεταξύ τους.



Σχήμα 3. Ανάλυση του ιζήματος του εναιωρημάτος απιξαμπάνης με το methyl paraben, του πολυμόρφου V της απιξαμπάνης και του εκδόχου methyl-parabens με τη χρήση Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC)

Και τα αποτελέσματα της ανάλυσης DSC επιβεβαιώνουν το παραπάνω συμπέρασμα ότι το ίζημα του εναιωρημάτος της απιξαμπάνης με το methyl-paraben είναι ένα προϊόν της αλληλεπίδρασης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Purohit, R. and P. Venugopalan, Polymorphism: An overview. *Resonance*, 2009. 14(9): p. 882-893.
- [2] Rolf Hilfiker, M.v.R., Polymorphism in the Pharmaceutical Industry: Solid Form and Drug Development. 1st ed. 2019: Wiley-VCH.
- [3] Thakuria, R. and T. Thakur, *Crystal Polymorphism in Pharmaceutical Science*. 2017.
- [4] Brog, J.-P., et al., Polymorphism, what it is and how to identify it: a systematic review. *RSC Advances*, 2013. 3(38): p. 16905-16931.
- [5] EMA. Eliquis, INN-apixaban. Available online: https://www.ema.europa.eu/el/documents/product-information/eliquis-epar-product-information_el.pdf (accessed on April 2024).
- [6] Barbas, R. Puigjaner, C. and Prohens, R., Assembling the Puzzle of Apixaban Solid Forms, *Molecular Pharmaceutics*, 2018, 15 (5), p. 1909-1916.
- [7] Jessica Cha, Timothy Gilmore, Philip Lane, Joseph S. Ranweiler, 12 - Stability Studies, *Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis*, Volume 10, 2011, Pages 459-505.