

УДК 544.02

Белов К.В., Киселев М.Г., Крестьянинов М.А., Ходов И.А.
ФГБУН «Институт химии растворов им. Г.А. Крестова» РАН, Иваново, Россия

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ ДОЛЕЙ КОНФОРМЕРОВ ТОЛФЕНАМОВОЙ КИСЛОТЫ ПО ДАННЫМ ЯДЕРНОГО ЭФФЕКТА ОВЕРХАУЗЕРА

Толфенамовая (2-[(3-хлор-2-метилфенил) амино] бензойной) кислота (ТФА) (см. рис. 1), является нестероидным противовоспалительным лекарственным веществом, обладающим конформционно-определяемым полиморфизмом. Для данного соединения известно восемь полиморфовых форм [1].

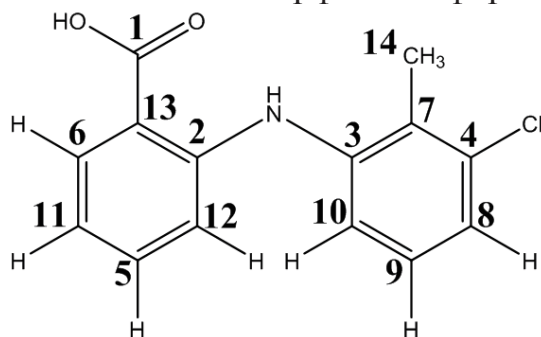


Рис 1. Структурная формула толфенамовой (2-[(3-хлор-2-метилфенил)амино]бензойной) кислоты (ТФА)

В работе [2], на примере противовоспалительного нестероидного лекарственного вещества – ибупрофена, показано, что преобладающие конформеры молекул данного соединения в насыщенном растворе напрямую определяются полиморфным состоянием твердой фазы. Таким образом, исследование данного класса лекарственных соединений является актуальной задачей фармацевтической и физической химии.

Одним из эффективных подходов к решению данного рода задач и определению соотношения долей конформеров молекул в растворах является спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и в частности подход на основе ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY). В рамках представленной работы приведены результаты расчета долей конформеров молекул ТФА в ДМСО-д6 на основе спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера.

Зарегистрированы 1D (^1H , ^{13}C) и 2D (^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBSC, ^1H - ^1H TOCSY, ^1H - ^1H NOESY) ЯМР спектры. Анализ полученных экспериментальных данных позволил провести отнесение резонансных сигналов в спектрах ^1H (см. рис 2 – слева) и ^{13}C .

Полученная информация использовалась для отнесения кросс-пиков на двумерных картах ^1H - ^1H NOESY (см. рис. 2 – справа) .

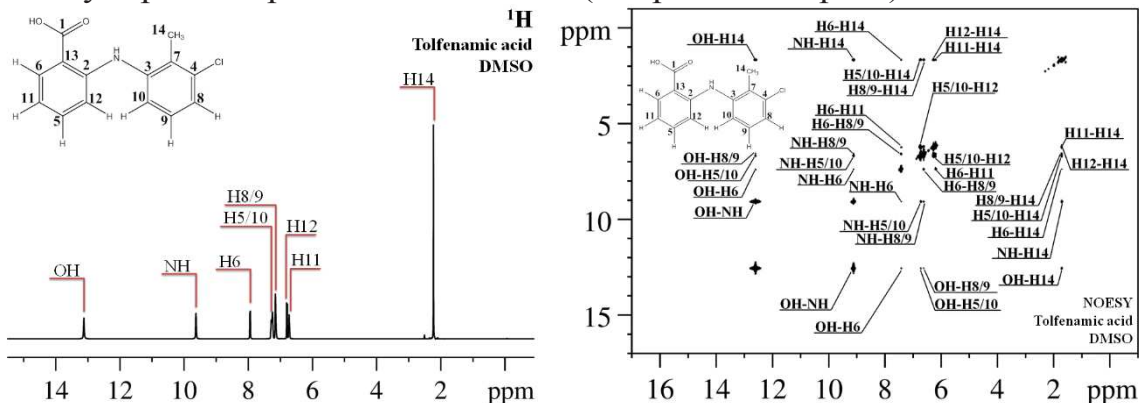


Рис 2. ^1H (слева) и ^1H - ^1H NOESY (справа) ЯМР спектры (2-[(3-хлор-2-метилфенил)амино]бензойной) кислоты (ТФА)

Затем полученные кросс-пики анализировались количественно при помощи уравнения (1) и определялись усредненные интегральные интенсивности кросс-пиков:

$$\bar{I}(\tau_m) = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{n_j} \left| \frac{a_{ij}(\tau_m)}{a_{ii}(\tau_m)} \right| + \frac{1}{n_i} \left| \frac{a_{ji}(\tau_m)}{a_{jj}(\tau_m)} \right| \right) \quad 1$$

где, n_j , n_i – параметры, указывающие на количество протонов, входящих в состав определяемой группы, a_{ij} , a_{ji} – параметры, определяющие интенсивность кросс-пиков в спектрах 2D NOESY, a_{ii} , a_{jj} – параметры, определяющие интенсивность диагональных сигналов в спектрах 2D NOESY. Построены зависимости величин интенсивностей ЯЭО от времени смешивание (τ_m) и определены значения скоростей кросс-релаксации ($\sigma_{\text{H12-H14}}$ и $\sigma_{\text{H6-H11}}$). Уравнение (2) использовано для определения экспериментального значения расстояния H12-H14 (r_{exp}) по данным эксперимента 2D NOESY:

$$r_{\text{exp}} = r_0 \left(\frac{\sigma_0}{\sigma_{\text{exp}}} \right)^{\frac{1}{6}} \quad 2$$

где, r_0 – усредненное значение расстояния H6-H11 из полученных структур конформеров, σ_0 – скорость кросс-релаксации для расстояния H6-H11, σ_{exp} – скорость кросс-релаксации для расстояния H12-H14.

Для всех наблюдаемых кросс-пиков определены значения межъядерных расстояний (до 5 Å). Затем по данным квантово-химических расчетов, в рамках теории функционала плотности (DFT) получены вероятные низкоэнергетические конформеры (А, В, С и D) ТФА. Используя полученные результаты установлены усредненные значения расстояний r_1 и r_2 (H12-H14) для А+С (4.84 Å) и В+D (3.15

Å), а также (Н6-Н11; $r_0 = 2.47$ Å). Для определения долей групп конформеров ТФА в растворе ДМСО использовано уравнение (3):

$$X_1 = \frac{r_2^6 (r_{exp}^6 - r_1^6)}{r_{exp}^6 (r_2^6 - r_1^6)} \quad (3)$$

где, где X_1 – доля первой из анализируемых групп конформеров, r_1, r_2 – значения расстояний Н12-Н14 для анализируемых групп конформеров, r_{exp} – значение усредненного расстояния Н12-Н14, полученное из эксперимента NOESY. Для второй группы доля рассчитывались согласно: $X_2=1-X_1$

Определены соотношения долей групп конформеров молекул толфенамовой кислоты и представлены в виде диаграммы (см. рис. 3).

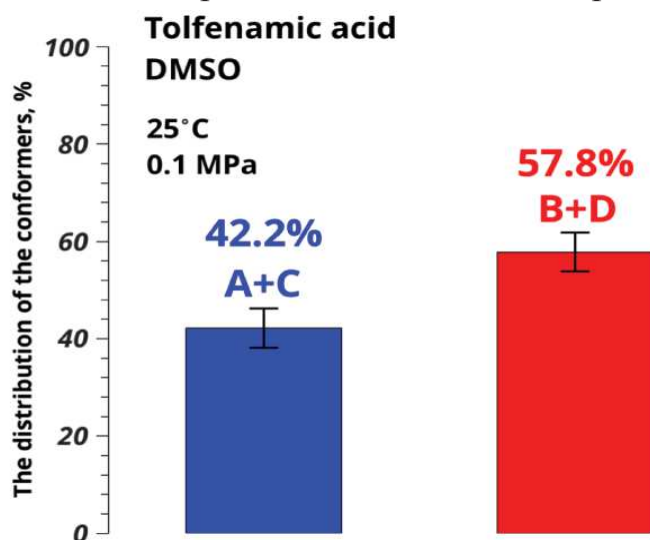


Рис 3. Диаграмма распределения конформеров для раствора ТФА в DMSO на основе экспериментальных данных 2D NOESY.

Полученные данные могут использоваться для проведения эффективного скрининга конформационного полиморфизма, а также понимания процессов нуклеации лекарственных веществ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ № 22-23-00793).

ЛИТЕРАТУРА

1. Case D.H. Successful Computationally Directed Templating of Metastable Pharmaceutical Polymorphs / Case D.H., Srirambhatla V.K., et.al. // *Crystal Growth and Design*. – 2018. 18, 9. – P. 5322-5331.
2. Khodov I.A. Determination of preferred conformations of ibuprofen in chloroform by 2D NOE spectroscopy / Khodov I.A., Efimov S.V., et.al. // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2014. 65. – P. 65-73.