

КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ФЛУФЕНАМОВОЙ КИСЛОТЫ В СК-CO₂ МЕТОДОМ 2D NOESY

К.В. Белов — Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия. ORCID: 0000-0001-5690-340X. Эл. почта: kvb@isc-ras.ru

А.А. Дышин — Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия. ORCID: 0000-0002-0263-642X. Эл. почта: aad@isc-ras.ru

М.А. Крестьянинов — Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия. ORCID: 0000-0001-7834-6763. Эл. почта: mak1111@bk.ru

В.В. Соборнова — Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия. ORCID: 0000-0001-7834-6763. Эл. почта: vvs@isc-ras.ru

И.А. Ходов — Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия. ORCID: 0000-0003-2439-9290. Эл. почта: iakh@isc-ras.ru (*для переписки*)

М.Г. Киселев — Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия. ORCID: 0000-0003-1189-3679. Эл. почта: mgk@isc-ras.ru

©2022 г. Поступила в редакцию 08.11.2022 г. Прошла рецензирование 30.11.2022 г.
Принята к публикации 30.11.2022 г.

В работе продемонстрированы возможности спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY) при определении долей групп конформеров молекул фенаматов на примере флуфенамовой кислоты. Установлено, что доли групп конформеров объекта исследования меняются до 32 % при переходе от системы с чистым ДМСО-*d*₆ к растворителю на основе СК-CO₂ с добавлением 2 мол. % ДМСО-*d*₆. Результаты проведенного исследования демонстрируют перспективность использования растворителей на основе сверхкритических флюидов для контроля преобладающей конформации малых молекул слабо растворимых соединений, что имеет высокий потенциал для подбора условий их микронизации методами RESS, SAS, DELOS.

Ключевые слова: сверхкритический флюид, флуфенамвая кислота, фенаматы, конформеры, 2D NOESY

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых форм известных лекарственных соединений — актуальная проблема фармацевтической химии. Флуфенамвая кислота — 2-{{3-(трифторметил)-фенил}амино}бензойная кислота, (ФК) — является представителем фармакологической группы фенаматов и до недавнего времени активно использовалась в медицинской практике как анальгетик с противовоспалительной и жаропонижающей активностью [1]. Трифторметильная группа флуфенамвой кислоты делает ее химическую структуру уникальной среди других фенаматов и обуславливает особенности конформационного поведения молекул. Известно, что такие лекарственные соединения, как ФК — с фторсодержащими заместителями — обладают привлекательными химическими и биологическими свойствами [2–4], а их наличие зачастую повышает фармакокинетику и биодоступность [5–8].

С другой стороны, ФК, как лекарственное соединение, относящееся ко II классу по биофармацевтической классификационной системе [9], обладает низкой растворимостью в воде. В связи с этим поиск путей повышения растворимости, и, как следствие, улучшения биодоступности [10] безусловно

является актуальным. В последнее время одним из эффективных подходов к повышению растворимости лекарственных форм является микронизация с использованием «зеленых» сверхкритических флюидных технологий (СКФ). В качестве относительно инертного растворителя в процессах СКФ зачастую используют диоксид углерода из-за небольших значений давления и температуры, необходимых для перехода СО₂ в состояние флюида (31,1 °С, 7,38 МПа), а также из-за простоты его удаления за счет простой декомпрессии системы. Кроме того, экологичность «зеленого» растворителя обусловлена возможностью его повторного использования. Однако в процессах микронизации лекарственных соединений с использованием СКФ-технологий особую важность представляет учет и контроль получаемой полиморфной формы кристаллов. Например, в работах [11–13] отмечали, что процесс микронизации ряда лекарственных соединений, таких как стеариновая кислота, ибупрофен, фенилбутанолон и др. может сопровождаться изменением полиморфных форм.

В работе [14] для представителя ряда фенаматов — мефенамовой кислоты была обнаружена корреляция между конформерами в растворе СК-СО₂ и полиморфным составом в твердой фазе. Поэтому информация о конформационном равновесии ФК в растворе при СК-параметрах состояния СО₂ может служить в качестве «отпечатка пальцев» для вероятных полиморфных переходов в твердой фазе. Поскольку ФК имеет самое большое число конформационно-определяемых полиморфных форм среди фенаматов, установление ее конформационных характеристик в среде СК-СО₂ является актуальным при микронизации с использованием СКФ-технологий.

Спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY) зарекомендовала себя в качестве эффективного метода [15–29] для определения долей конформеров. Особенность исследования ФК состоит в плохой растворимости в СК-СО₂ ($\gamma < 10^{-3}$ М). В связи с этим был использован подход, который предполагает добавление 2 мол. % фармацевтически одобренной добавки ДМСО-д₆ с целью увеличения растворимости [30]. Подбор параметров состояния для данной системы (45 °С и 9 МПа) был выполнен таким образом, чтобы отношение СК-СО₂ к ДМСО-д₆ составляло 98 : 2 в соответствии с литературными данными [31, 32] и обусловлен фазовым поведением смеси. Такая флюидная система может применяться в процессах микронизации путем сброса давления сверхкритического раствора в среду органического растворителя DELOS (Depressurization of an Expanded Liquid Organic Solution) [33].

В работе представлены результаты конформационного анализа ФК в дейтерированном ДМСО-д₆ (25 °С и 0,1 МПа) и СК-СО₂+ДМСО-д₆ (45 °С и 9 МПа), полученные на основе данных спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для ЯМР-анализа использованы вещества, приобретенные в фирме Sigma Aldrich: ФК — 99,99 мас. % (CAS 530-78-9) производства Supelco (г. Дармштадт, Германия); ДМСО-д₆ (CAS 2206-27-1) производства Sigma Aldrich Co, (штат Миссури, США) и СО₂ (о.ч., ГОСТ 8050-85; СО₂ — 99,97 %, Н₂О < 0,001 %) производства ООО «Чистые газы плюс» (г. Новосибирск).

ЯМР-эксперименты на основе СК-СО₂ были реализованы с использованием системы создания и поддержания высокого давления в режиме реального времени (рис. 1) на базе уникальной научной установки «Флюид-спектр»

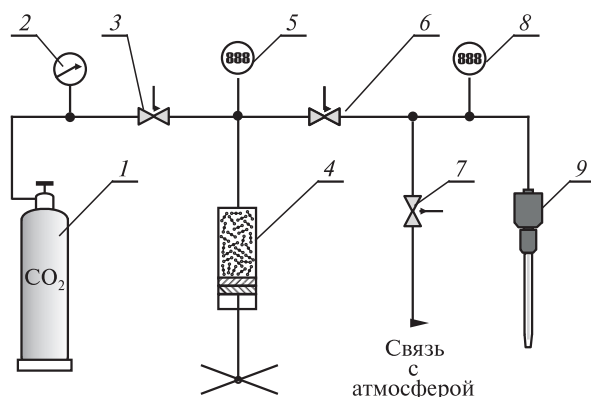


Рис. 1. Схема установки для создания и поддержания давления в ЯМР-ячейке высокого давления:

1 – баллон с углекислым газом (Балашихинский кислородный завод), 2 – стрелочный манометр (WIKA), 3, 6 и 7 – игольчатый вентиль (High Pressure Equipment Company), 4 – шприцевой насос с ручным управлением (High Pressure Equipment Company), 5 и 8 – электронный датчик давления (Gems Sensors&Controls), 9 – сапфировая ЯМР-ячейка высокого давления (модернизированная нами ячейка производства Daedalus Innovations LLC)

Института химии растворов им. Г.А. Крестова РАН (<https://ckp-rf.ru/usu/503933/>). Усовершенствование ячейки ЯМР описано ранее в [34].

Используемая в работе уникальная установка совместно со спектрометром Bruker Avance III 500 и специальной ЯМР-ячейкой позволили провести регистрацию спектров ЯМР при параметрах состояния выше критической точки для CO_2 ; при этом именно смесь СК- CO_2 + ДМСО- d_6 не является сверхкритическим флюидом [31, 34, 35].

Квантово-химические расчеты геометрических и энергетических характеристик структуры конформеров ФК выполнены с использованием программного обеспечения Gaussian 09 [36]. Проведен поиск структур вероятных конформеров ФК, который основан на анализе поверхности потенциальной энергии с использованием полуэмпирического метода PM3 (параметрический метод 3) [37–39]. Затем выполнена оптимизация геометрических параметров и частот колебаний на основе теории функционала плотности (DFT) в рамках функционала APFD [40] и базисного набора 6–311++g(2d,p) [41]. Использование функционала APFD обусловлено его релевантностью [40, 42] при работе с малыми молекулами органических лекарственных соединений, имеющих циклический фрагмент в структуре. Расчеты показали отсутствие мнимых частот колебаний, что подтверждает надежность полученных результатов.

При подготовке образца для проведения экспериментов ЯМР в сапфировую ячейку помещали фиксированный объем насыщенного раствора ФК в ДМСО- d_6 (86 мкл), после чего оставшийся объем ячейки заполняли диоксидом углерода под давлением 9 МПа, температуру поддерживали постоянной (45°C). С использованием подготовленных образцов получены одно- (^1H , ^{13}C) и двумерные (^1H – ^{13}C HSQC, ^1H – ^{13}C HMBC, ^1H – ^1H TOCSY, ^1H – ^1H NOESY) ЯМР-спектры ФК в ДМСО- d_6 и СК- CO_2 + ДМСО- d_6 . Резонансная частота для ^1H составляет $-500,17$ МГц, для ^{13}C – $125,77$ МГц. Температуру образца поддерживали в пределах $\pm 0,10^\circ\text{C}$ за счет блоков температурного контроля (BVT-2000) и охлаждения (BCU-05).

Регистрацию спектров ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY) [43–46] выполняли в диапазонах от 0 до 20 ppm по осям F1 и F2, число сканов – 16 (ДМСО- d_6) и 8 (СК- CO_2). Параметр времени смешивания в экспериментах NOESY в ДМСО- d_6 составлял от 0,05 с до 0,80 с с шагом 0,05 с, в СК- CO_2 + ДМСО- d_6 – 0,10 с до 0,90 с с шагом 0,1 с. Отнесение сигналов ЯМР ^1H и ^{13}C к группам атомов молекул ФК, выполненные при помощи ^1H – ^{13}C HSQC, ^1H – ^{13}C HMBC и ^1H – ^1H TOCSY, приведены в виде таблицы.

Таблица
Значения химических сдвигов сигналов в 1D-спектрах ЯМР, а также внутримолекулярных корреляций, определенных из 2D-спектров молекулы ФК в ДМСО-д₆

¹³ C	$\delta^{13}\text{C}$	¹ H	$\delta^1\text{H}$	HSQC	HMBC	TOCSY			NOESY
						20 мс	60 мс	100 мс	
C1	169,62	OH	13,21	—	C1—NH C1—H6 C1—H5 C1—H12 C1—H11	OH—NH	OH—NH	OH—NH	OH—NH OH—H6 OH—H7/9/10
C2	145,47	—	—	—	C2—NH C2—H6 C2—H5 C2—H11 C2—H12	—	—	—	—
C3	141,89	—	—	—	C3—NH C3—H7/9/10 C3—H8 C3—H12	—	—	—	—
C5	133,99	H5	7,43	C5—H5	C5—NH C5—H6 C5—H8 C5—H11 C5—H12	H5—H12	H5—H12	H5—H12	H5—H11
C6	131,90	H6	7,95	C6—H6	C6—H5 C6—H11	H6—H5 H6—H12 H6—H11	H6—H5 H6—H12 H6—H11	H6—H5 H6—H12 H6—H11	H6—H11

Окончание таблицы

¹³ C	$\delta^{13}\text{C}$	¹ H	$\delta^1\text{H}$	HSQC	HMBC	TOCSY			NOESY
						20 мс	60 мс	100 мс	
C7	116,33			C7-H7	C7-NH C7-H7/9/10				
C9	132,34	H7/9/10	7,51	C9-H9	C9/4-H7/9/10 C10-NH		H7/9/10-H8	H7/9/10-H8	H7/9/10-H8/12
C10	122,61			C10-H10	C10-H7/9/10 C10-H8				
C4	130,26								
CF ₃	127,24 125,09 122,91 120,74								
C11	118,73	H11	6,87	C11-H11	C11-H12		H11-H5 H11-H12	H11-H5 H11-H12	
C8	118,46	H8	7,30	C8-H8	C8-H7/9/10				
C12	114,71	H12	7,28	C12-H12	C12-NH C12-H5 C12-H6 C12-H11				
C13	114,31				C13-H6 C13-H5 C13-H11 C13-H12				
-	-	NH	9,73				NH-12	NH-11 NH-H12 NH-H7/9/10	NH-H6 NH-H7/9/10

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ¹H ЯМР-спектре ФК в ДМСО-*d*₆ (рис. 2) наблюдается 9 резонансных сигналов. В области сильного поля расположен сигнал растворителя ДМСО-*d*₆. При этом сигналы, относящиеся к атомам водорода циклических фрагментов молекулы ФК, расположены в диапазоне от 7 до 8 м.д. (H11, H12, H8, H5, H7/9/10, H6). В области слабого поля расположены два сигнала, принадлежащие атомам водорода NH- и OH-группам. Как видно из рис. 2, часть сигналов протонов СН-групп находятся очень близко друг к другу, однако за счет применения 2D ЯМР-методов (¹H—¹H TOCSY, ¹H—¹³C HSQC и ¹H—¹³C HMBSC) (см. табл.) удалось однозначно установить значения величин их химических сдвигов для протонов ФК.

Полученные данные о соответствии сигналов в ¹H ЯМР характеристическим группам в структуре молекулы ФК использованы для дальнейшего анализа 2D NOESY спектров с различными задержками импульсной последовательности (временами смешивания). По данным спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY) удалось идентифицировать наличие 8 кросс-пиков (рис. 3), обусловленных диполь-дипольным взаимодействием близко расположенных атомных групп до 5 Å: OH—NH, OH—H6, OH—H7/9/10, NH—H6, NH—H7/9/10, H6—H11, H7/9/10—H8/12 и H5—H11.

Квантово-химические расчеты показали 16 вероятных конформеров с наименьшими значениями энергии. Некоторые из обнаруженных структур конформеров стабилизированы π—π-сопряжением электронных пар ароматических колец и атома азота, что приводит к относительно плоской структуре фрагмента C₂—N(H)—C₃ молекулы ФК. Вращение гидроксильного фрагмента молекулы ФК внутри карбоксильной группы и ароматического кольца с карбоксильной группой приводит к появлению конформеров с более высокой энергией, что на практике может быть реализовано с низкой вероятностью, поэтому они были исключены из дальнейшего анализа. Таким образом, рассматриваются четыре наиболее вероятных конформера молекулы

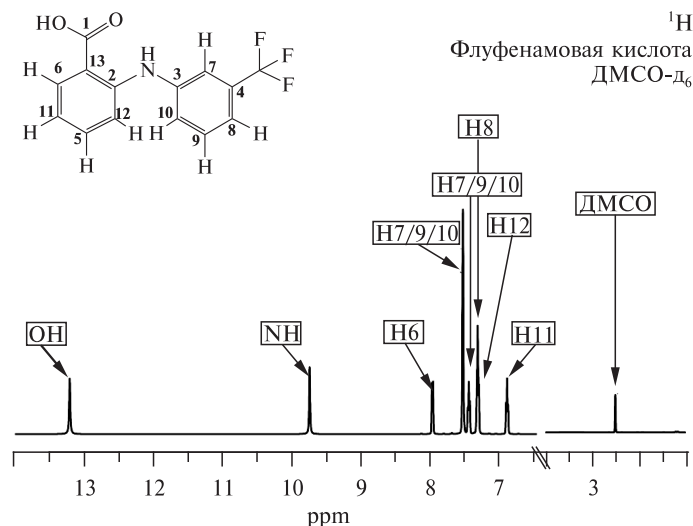


Рис. 2. ¹H ЯМР-спектр ФК в ДМСО-*d*₆

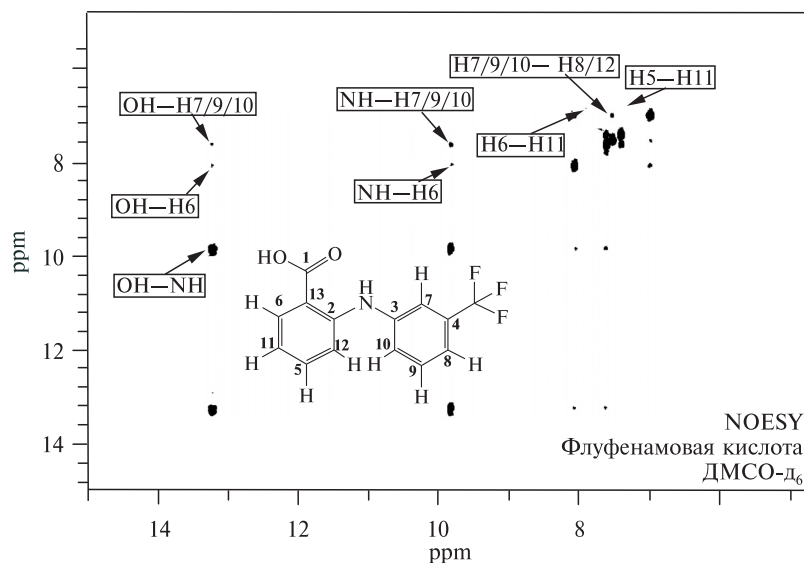


Рис. 3. ^1H - ^1H NOESY спектр ФК в ДМСО- d_6 , зарегистрирован при 45 °С и 9 МПа

ФК (А, В, С и D), которые обусловлены значением угла $\tau_1[\text{C}_2\text{—N—C}_3\text{—C}_7]$ (А/С и В/Д). Структуры вероятных конформеров приведены на рис. 4 (см. цв. вкладку).

Как видно из рис. 4, трифторметильный фрагмент может принимать различные положения: сонаправленные (конформеры А и С) и противоположно направленные (В и D) карбоксильной группе антралилового фрагмента. Представленные на рис. 4 конформеры имеют различные ориентации карбоксильного фрагмента, однако, как следует из литературных данных [47], такой тип внутримолекулярной лабильности не оказывает прямого влияния на полиморфные формы ФК.

Значения расстояний, отвечающих наблюдаемым кросс-пикам, рассчитывали для каждого конформера по квантово-химическим данным согласно моделям усреднения в зависимости от типа внутримолекулярной лабильности [18, 22, 24, 48]. Анализ величин расстояний показал, что наиболее существенные изменения наблюдались для конформеров молекул ФК за счет изменения расстояния NH—H7. Величины расстояния NH—H7 для конформеров А, В, С и D составляют 2,51, 3,58, 2,46 и 3,58 Å, соответственно. Усредненное как $1/r^6$ значение расстояния NH—H7 в группе А + С составляет $2,48 \pm 0,03$ Å, для В + D — $3,58 \pm 0,01$ Å.

С целью определения экспериментального значения конформационно-определяемого расстояния (NH—H7) в рамках модели ISPA использовали референсное расстояние, выбор которого обусловлен небольшим изменением для различных конформаций (не более 0,01 Å) и минимизации эффекта анизотропии внутримолекулярной подвижности [49—51]. В качестве референсного расстояния было выбрано H6—H11, значение которого составляло 2,47 Å (таблица), что хорошо согласуется с экспериментальными данными рентгеноструктурного анализа полиморфных форм ФК [47]. Для расчета величины усредненного расстояния использовали уравнение 1 с учетом ограниченной внутримолекулярной подвижности:

Вкладка к статье К.В. Белова, А.А. Дышина, М.А. Крестьянинова, В.В. Соборновой, И.А. Ходова, М.Г. Киселева «Конформационный анализ флуфенамовой кислоты в СК-CO₂ методом 2D NOESY»

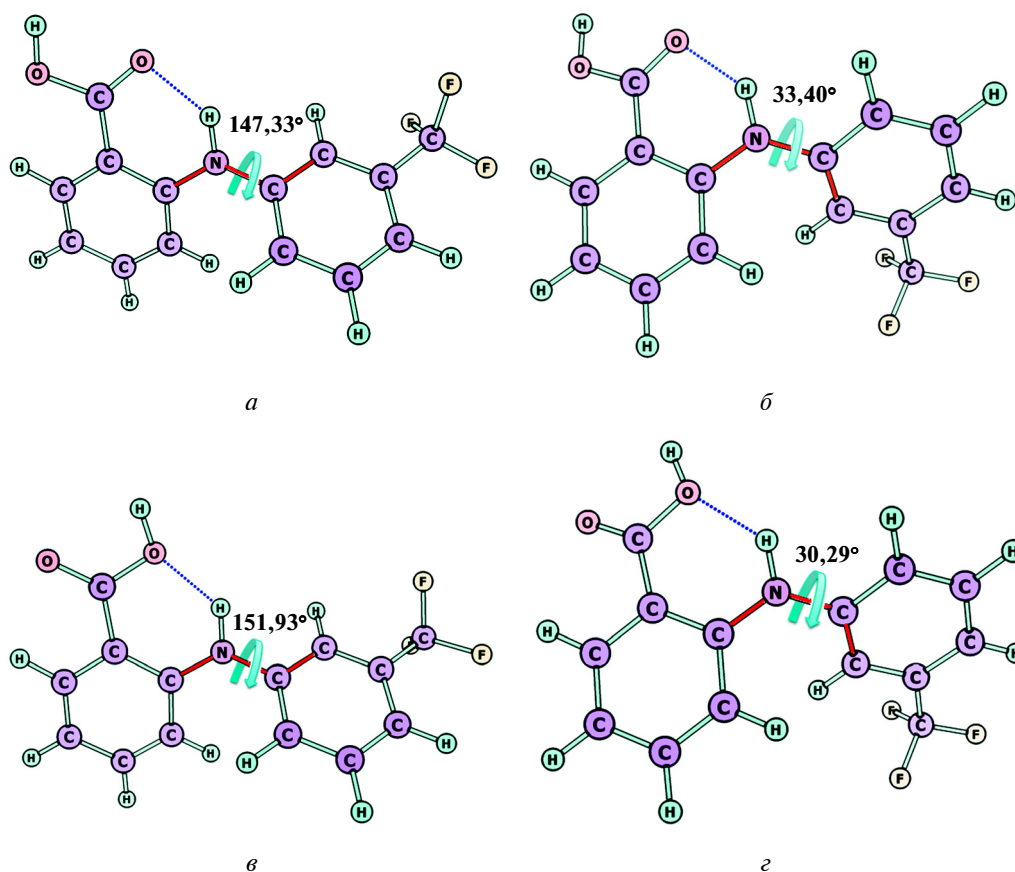


Рис. 4. Структуры конформеров ФК с обозначением значений диэдрального угла τ_1 [C₂-N-C₃-C₇]

$$r_i^{eff} = \left[\frac{1}{n_I n_S} \sum_i \frac{1}{r_i^6} \right]^{\frac{1}{6}}, \quad (1)$$

где r_i^{eff} — усредненное межъядерное расстояние из структур конформеров, полученных в рамках квантово-химических расчетов, n_I и n_S — количество эквивалентных спинов в группах атомов I и S , r_i — расстояние между спинами в рассматриваемых группах.

Для расчета долей групп конформеров ФК проводили экспериментальную оценку величины расстояния NH—H7 по данным спектроскопии NOESY. Используемый при анализе подход к определению расстояний основан на взаимосвязи скорости кросс-релаксации и межъядерного расстояния в соответствии с уравнением 2:

$$\sigma_{ij} = \frac{1}{r_{ij}^6}, \quad (2)$$

где σ_{ij} — скорость кросс-релаксации между i -м и j -м атомом, r_{ij} — расстояние между i -м и j -м атомом, Å.

Ли и Кришна [52] показали, что в случае быстрого конформационного обмена результирующая наблюдаемая скорость кросс-релаксации представляет собой взвешенную сумму с учетом долей отдельных конформеров. Следовательно, с учетом уравнения (2) величина определяемого расстояния будет взвешенной $1/r^6$. В свою очередь, значение скорости кросс-релаксации может быть определено из параметров наклона аппроксимирующей прямой зависимости усредненной интегральной интенсивности кросс-пигов в спектре NOESY от времени смешивания $I_{ij}(\tau_m)$.

Величины скоростей кросс-релаксации по данным NOESY для групп атомов NH—H7 и H6—H11 в молекуле ФК в среде ДМСО-*d*₆ составили $(2,05 \pm 0,05) \cdot 10^{-2}$ и $(3,89 \pm 0,14) \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$ соответственно. Вместе с тем для экспериментов в среде СК-СО₂+ДМСО-*d*₆ при 45 °С и 9 МПа значения скорости кросс-релаксации данных расстояний составили $(9,08 \pm 0,63) \cdot 10^{-3}$ и $(3,56 \pm 0,22) \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$, соответственно.

С использованием уравнения 3 [34, 53, 54] получены величины расстояния NH—H7 для системы ФК в ДМСО-*d*₆ — $2,75 \pm 0,03 \text{ Å}$, а также для ФК в среде СК-СО₂ с добавлением ДМСО-*d*₆ — $3,10 \pm 0,07 \text{ Å}$:

$$r_{exp} = r_0 \sqrt[6]{\frac{\sigma_0}{\sigma_{exp}}}, \quad (3)$$

где r_0 — референсное расстояние, полученное из экспериментальных данных рентгеноструктурного анализа, σ_0 — скорость кросс-релаксации для референсного расстояния, σ_{exp} — скорость кросс-релаксации искомого расстояния, r_{exp} — значение межъядерного расстояния, полученное по данным эксперимента NOESY.

Согласно методике, описанной выше, были установлены доли групп конформеров ФК в ДМСО-*d*₆, которые составляют А + С (49 %) и В + D (51 %), т. е. равны в пределах погрешности (± 4 %), в то время как для системы СК-СО₂ + ДМСО-*d*₆ наблюдаются значительные изменения: А + С (17 %), В + D (83 %). Полученные данные приведены на рис. 5.

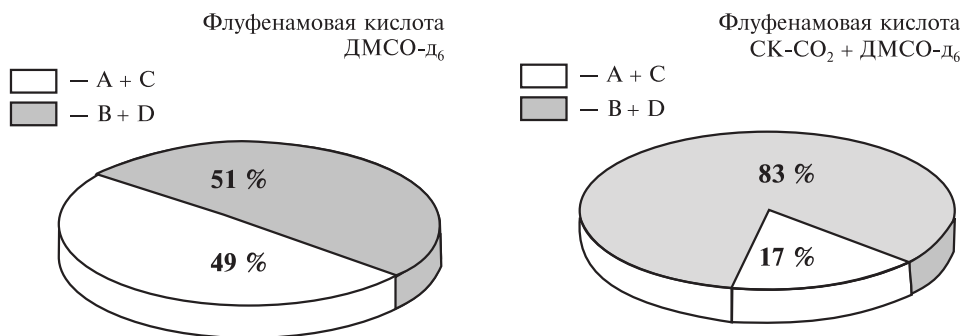


Рис. 5. Доли конформеров ФК
a — в ДМСО- d_6 ; *b* — в СК- CO_2 + ДМСО- d_6

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен количественный анализ конформационных равновесий плохо растворимого соединения — флуфенамовой кислоты в ДМСО- d_6 и СК- CO_2 + ДМСО- d_6 . Доли групп конформеров A + C и B + D, связанные с изменениями положения фенильных колец молекул ФК вокруг связи NH—C3 и величины дегидрального угла $\tau_1[\text{C}_2\text{—N—C}_3\text{—C}_7]$, составляют $49/51 \pm 4$ и $17/83 \pm 5$ % в ДМСО- d_6 и СК- CO_2 с добавлением 2 % ДМСО- d_6 , соответственно. Результаты конформационного анализа молекул ФК, полученные на основе спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY), согласуются с квантово-химическими расчетами. Доминирующими конформациями молекул ФК являются B + D вне зависимости от используемого растворителя. Кроме того, показано, что СК- CO_2 является перспективной средой для изменения и контроля преобладающей конформации молекул слабо растворимых соединений, что имеет высокий потенциал для разработки методов микронизации лекарственных форм.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ (проект № 22-13-00257).

THE CONFORMATIONAL ANALYSIS OF FLUFENAMIC ACID IN SC- CO_2 BY 2D NOESY

K.V. Belov — G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5690-340X. E-mail: kvb@isc-ras.ru

A.A. Dyshin — G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-0263-642X. E-mail: aad@isc-ras.ru

M.A. Krestyaninov — G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-7834-6763. E-mail: mak1111@bk.ru

V.V. Sobornova — G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-7834-6763. E-mail: vvs@isc-ras.ru

I.A. Khodov — G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-2439-9290. E-mail: iakh@isc-ras.ru (*for correspondence*)

M.G. Kiselev — G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-1189-3679. E-mail: mgk@isc-ras.ru

The results showed possibilities of nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY) for conformational analysis of fenamates molecules (e.g. flufenamic acid). It has been established that the proportions of conformer groups were changed up to 32% upon transition from a system with pure DMSO to a solvent based on SC-CO₂ with the addition of 2 mol. % DMSO. The results of the study can be applied to control the conformational equilibrium of small drug-like molecules using supercritical fluids for slightly soluble compounds. This information is a high potential useful for fenamates micronization by the RESS, SAS, and DELOS methods.

Key words: supercritical fluid, flufenamic acid, fenamates, conformers, 2D NOESY.

ACKNOWLEDGMENTS

The research was supported by a grant of the Russian Science Foundation (project no. 22-13-00257).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lipman A.G.* // Int. J. Pharm. Pract. 1993. Vol. 2. No 2. P. 124.
2. *Ojima I.* // J. Org. Chem. 2013. Vol. 78. No 13. P. 6358.
3. *Altomonte S., Zanda M.* // J. Fluor. Chem. 2012. Vol. 143. P. 57.
4. *Purser S., Moore P.R., Swallow S., Gouverneur V.* // Chem. Soc. Rev. 2008. Vol. 37. No 2. P. 320.
5. *Hendriks C.M.M., Penning T.M., Zang T., Wiemuth D., Grunder S., Sanhueza I.A., Schoenebeck F., Bolm C.* // Bioorganic Med. Chem. Lett. 2015. Vol. 25. No 20. P. 4437.
6. *Dorsey W.S., Easterly W.D.* // J. Pharm. Sci. 1971. Vol. 60. No 11. P. 1723.
7. *Gupta S.P.* // Lett. Drug Des. Discov. 2019. Vol. 16. No 10. P. 1089.
8. *Monteillier A., Loucif A., Omoto K., Stevens E.B., Vicente S.L., Saintot P.-P., Cao L., Pryde D.C.* // Bioorganic Med. Chem. Lett. 2016. Vol. 26. No 20. P. 4919.
9. *Amidon G.L., Lennernäs H., Shah V.P., Crison J.R.* // Pharm. Res. An off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci. 1995. Vol. 12. No 3. P. 413.
10. *Censi R., Di Martino P.* // Molecules. 2015. Vol. 20. No 10. P. 18759.
11. *Sala S., Elizondo E., Moreno E., Calvet T., Cuevas-Diarte M.A., Ventosa N., Veciana J.* // Cryst. Growth Des. 2010. Vol. 10. No 3. P. 1226.
12. *Oparin R.D., Vorobei A.M., Kiselev M.G.* // Russ. J. Phys. Chem. B 2019. Vol. 13. No 7. P. 1139.
13. *Moribe K., Tozuka Y., Yamamoto K.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 2008. Vol. 60. No 3. P. 328.
14. *Oparin R.D., Vaksler Y.A., Krestyaninov M.A., Idrissi A., Shishkina S.V., Kiselev M.G.* // J. Supercrit. Fluids. 2019. Vol. 152. No 104547.
15. *Khodov I.A., Belov K.V., Dyshin A.A., Krestyaninov M.A., Kiselev M.G.* // J. Mol. Liq. 2022. Vol. 367. P. 120525.
16. *Khodov I.A., Belov K.V., Krestyaninov M.A., Kiselev M.G.* // Russ. J. Phys. Chem. A. 2022. Vol. 96. No 4. P. 765.
17. *Belov K.V., Dyshin A.A., Kiselev M.G., Krestyaninov M.A., Sobornova V.V., Khodov I.A.* // Russ. J. Phys. Chem. B 2021. Vol. 15. No 8. P. 1303.

18. *Khodov I.A., Belov K.V., Pogonin A.E., Savenkova M.A., Gamov G.A.* // *J. Mol. Liq.* 2021. Vol. 342. No 117372.
19. *Khodov I., Efimov S., Krestyaninov M., Kiselev M.* // *J. Pharm. Sci.* 2021. Vol. 110. No. 4. P. 1533.
20. *Khodov I., Dyshin A., Efimov S., Ivlev D., Kiselev M.* // *J. Mol. Liq.* 2020. Vol. 309. P. art. No 113113.
21. *Gamov G.A., Khodov I.A., Belov K.V., Zavalishin M.N., Kiselev A.N., Usacheva T.R., Sharnin V.A.* // *J. Mol. Liq.* 2019. Vol. 283. P. 825.
22. *Khodov I.A., Efimov S.V., Klochkov V.V., Batista De Carvalho L.A.E., Kiselev M.G.* // *J. Mol. Struct.* 2016. Vol. 1106. P. 373.
23. *Khodov I.A., Efimov S.V., Klochkov V.V., Alper G.A., Batista De Carvalho L.A.E.* // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2014. Vol. 65. P. 65.
24. *Khodov I.A., Nikiforov M.Y., Alper G.A., Blokhin D.S., Efimov S.V., Klochkov V.V., Georgi N.* // *J. Mol. Struct.* 2013. Vol. 1035. P. 358.
25. *Efimov S.V., Dubinin M.V., Kobchikova P.P., Zgdzay Y.O., Khodov I.A., Belosludtsev K.N., Klochkov V.V.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2020. Vol. 526. No 4. P. 1054.
26. *Kobchikova P.P., Efimov S.V., Khodov I.A., Klochkov V.V.* // *J. Mol. Liq.* 2021. Vol. 336. P. 116244.
27. *Selivanov S.I., Wang S., Filatov A.S., Stepanov A.V.* // *Appl. Magn. Reson.* 2020. Vol. 51. No 2. P. 165.
28. *Selivanov S.I., Shavva A.G.* // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2002. Vol. 28. No 3. P. 194.
29. *Belov K.V., Batista De Carvalho L.A.E., Dyshin A.A., Efimov S.V., Khodov I.A.* // *Pharm.* 2022. Vol. 14. P. 2276
30. *Jacob S.W., Herschler R.* // *Cryobiology* 1986. Vol. 23. No 1. P. 14.
31. *Andreatta A.E., Florusse L.J., Bottini S.B., Peters C.J.* // *J. Supercrit. Fluids* 2007. Vol. 42. No 1. P. 60.
32. *Lias S.G., Rosenstock H.M., Draxl K., Steiner B.W., Herron J.T., Holmes J.L., Levin R.D., Liebman J.F., Kafafi S.A.* // *Natl. Inst. Stand. Technol. Gaithersbg. MD* 2011. Vol. 20899.
33. *Ventosa N., Sala S., Veciana J., Torres J., Llibre J.* // *Cryst. Growth Des.* 2001. Vol. 1. No 4. P. 299.
34. *Sauceau M., Letourneau J.-J., Richon D., Fages J.* // *Fluid Phase Equilib.* 2003. Vol. 208. No 1–2. P. 99.
35. *Jaxel J., Gusenbauer C., Böhmendorfer S., Liebner F., Hansmann C.* // *J. Supercrit. Fluids* 2020. Vol. 165. P. 104978.
36. *Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery Jr. J.A., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D.J.* // *Gaussian 09 Revis. C.* 01. 2010.
37. *Stewart J.J.P.* // *J. Comput. Chem.* 1989. Vol. 10. No 2. P. 209.
38. *Stewart J.J.P.* // *J. Comput. Chem.* 1989. Vol. 10. No 2. P. 221.
39. *Anders E., Koch R., Freunsch P.* // *J. Comput. Chem.* 1993. Vol. 14. No 11. P. 1301.
40. *Austin A., Petersson G.A., Frisch M.J., Dobek F.J., Scalmani G., Throssell K.* // *J. Chem. Theory Comput.* 2012. Vol. 8. No 12. P. 4989.
41. *Krishnan R., Binkley J.S., Seeger R., Pople J.A.* // *J. Chem. Phys.* 1980. Vol. 72. No 1.
42. *Oparin R.D., Ivlev D.V., Kiselev M.G.* // *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2020. Vol. 230. P. 118072.
43. *Kessler H., Oschkinat H., Griesinger C., Bermel W.* // *J. Magn. Reson.* 1986. Vol. 70. No. 1. P. 106.
44. *Stonehouse J., Adell P., Shaka A. J., Keeler J.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. Vol. 116. No 13. P. 6037.
45. *Stott K., Stonehouse J., Keeler J., Hwang T.-L., Shaka A.J.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. Vol. 117. No 14. P. 4199.

Конформационный анализ флуфенамовой кислоты в СК-CO₂ методом 2D NOESY

46. *Thrippleton M.J., Keeler J.* // *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2003. Vol. 42. No 33. P. 3938.
 47. *López-Mejías V., Kampf J.W., Matzger A.J.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. Vol. 134. No 24. P. 9872.
 48. *Tropp J.* // *J. Chem. Phys.* 1979. Vol. 72. No 11. P. 6035.
 49. *Selivanov S.I., Shavva A.G.* // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2002. Vol. 28. No 3. P. 194.
 50. *Shavva A.G., Selivanov S.I., Starova G.L., Abusalimov S.N.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2006. Vol. 42. No 2. P. 198.
 51. *Woessner D.E.* // *J. Chem. Phys.* 1962. Vol. 36. No 1. P. 1.
 52. *Lee W., Krishna N.R.* // *J. Magn. Reson.* 1992. Vol. 98. No 1. P. 36.
 53. *Belov K.V., Eremeev I.E., Sobornova V.V., Klochkov V. V., Khodov I.A.* // *Macroheterocycles* 2020. Vol. 13. No 1. P. 44.
 54. *Strotz D., Orts J., Chi C.N., Riek R., Vögeli B.* // *J. Chem. Theory Comput.* 2017. Vol. 13. No 9. P. 4336.
 55. *Bame J., Hoeck C., Carrington M.J., Butts C.P., Jäger C.M., Croft A.K.* // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018. Vol. 20. No 11. P. 7523.
-
-