

КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ МЕФЕНАМОВОЙ КИСЛОТЫ В СК-CO₂—ДМСО 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

Л.А.Е. Батиста де Карвальо — Коимбрский университет, Коимбра, Португалия. ORCID: 0000-0002-8059-8537. Эл. почта: analmbc@gmail.com

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

В.В. Соборнова — Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия; Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, Россия. ORCID: 0000-0001-9505-0518. Эл. почта: sobornova2000@gmail.com

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)

©2021 г. Поступила в редакцию 21.06.2021 г. Прошла рецензирование 05.07.2021 г.
Принята к публикации 05.07.2021 г.

С помощью метода 2D NOESY определена пространственная структура молекулы мефенамовой кислоты в растворе СК-CO₂ с добавлением ДМСО (25 % и 10 %). Полученные в работе данные будут использоваться для расчета оптимальных параметров состояния процессов микронизации методом GAS.

Ключевые слова: ЯМР с контролем давления, СК-CO₂, мефенамовая кислота, 2D NOESY, малые молекулы, пространственная структура.

ВВЕДЕНИЕ

Мефенамовая кислота (МК) — хорошо известное обезболивающее и жаропонижающее средство, принадлежащее к классу фенаматов — нестероидных противовоспалительных средств; используется для лечения легкой и умеренной боли. Растворимость коммерчески доступной формы МК в воде при нормальных условиях имеет крайне низкое значение (молярная доля ниже 10⁻⁴) [1].

Для ряда лекарственных соединений, в том числе и МК, повышение их растворимости в воде является одним из важных показателей успешного достижения терапевтического эффекта. В работах [3, 4] было показано, что модификация структуры фармацевтических препаратов с точки зрения гранулометрического состава может улучшить их растворимость, скорость растворения, биодоступность и стабильность.

Распылительная сушка [5], струйная мельница [6], осаждение жидких антирастворителей [7], сублимационная сушка [8], испарение растворителя [9] и перекристаллизация [10] — наиболее известные традиционные методы уменьшения размера частиц (микронизации). Однако некоторые важные недостатки, такие как использование больших количеств токсичных органических растворителей на стадиях кристаллизации и промывки, широкий гранулометрический

состав, термическое или механическое разложение существенно ограничивают широкое применение этих методов [11–13].

За последние три десятилетия сверхкритические флюиды (СКФ) проявили себя в качестве одной из наиболее доступных и сравнительно чистых технологий для инженерии частиц, привлекая тем самым большое внимание к себе в различных областях науки и техники, в том числе, в фармацевтической промышленности. Изменение плотности и сольватационной способности СКФ путем небольшого изменения температуры и давления в системе — одна из сильных сторон данной технологии. Кроме того, относительно низкая рабочая температура (35–40 °С) имеет преимущество для обработки термочувствительных фармацевтических компонентов. Производство высококачественных продуктов без остаточного растворителя и контроль гранулометрического состава делают сверхкритический подход привлекательным вариантом для фармацевтической промышленности [14]. Среди доступных СКФ предпочтение, как правило, отдается сверхкритическому диоксиду углерода (СК-СО₂) из-за его свойств, таких как: низкая вязкость, нетоксичность, умеренные критические параметры состояния, легкость доступа, низкая цена и экологичность [15].

СК-СО₂ может играть разные роли в процессах получения микро- и наночастиц. Так, он применяется в процессе RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solutions), основанном на его способности быть растворителем при получении наночастиц [16]. В то же время в процессе SAS (Supercritical AntiSolvent) СК-СО₂ используют в качестве антирастворителя (осадителя) [17], например в методе газовой микронизации (процесс GAS) [18]. Кроме того, СК-СО₂ может служить растворенным веществом в СКФ-методе получения микро-частиц при осаждении их из насыщенного газом раствора (процесс PGSS — Particles from Gas Saturated Solutions) [11].

В работе [19] было проведено исчерпывающее исследование, посвященное контролю конформационного полиморфизма МК в СО₂ методом перекристаллизации в насыщенном растворе. При этом методы микронизации в данной работе не рассматривались. Однако, как показано в более ранней работе [20], на коммерчески доступной установке RESS для МК в СО₂ невозможно получить микронизированную вторую полиморфную форму (Form II). Это происходит из-за существенных конструкционных ограничений коммерчески доступных RESS-установок, которые позволяют работать только в узком диапазоне параметров состояния. В связи с этим, использование других технологий, таких как SAS или GAS, является целесообразным в качестве дополнительных подходов, позволяющих реализовать более широкий спектр задач. С целью проверки возможности использования данных технологий для контроля конформационно определяемого полиморфизма мы попытались приближенно воспроизвести технологию GAS в ЯМР эксперименте с одновременным мониторингом конформационного состояния.

В текущей работе мы рассматриваем гипотетическую возможность микронизации GAS с использованием ДМСО в качестве органического растворителя. ДМСО был выбран с учетом одобрения санитарного надзора за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для использования в медицине (растворитель класса III) из-за его низкой токсичности и меньшего риска для здоровья человека [21]. Кроме того, высокая смешиваемость ДМСО с СК-СО₂ и его чрезвычайно высокое объемное расширение с СК-СО₂ делают

его широко используемым растворителем для процесса антирастворителя GAS [22–24]. Существует множество работ, в которых ДМСО использовался в качестве органического растворителя в процессе GAS для создания ряда микронизированных лекарственных форм, таких как 5-фторурацил [25], ампициллин [26], инсулин [22], Си-индометацин [27], лизоцим [28] и других.

В процессе GAS вещество сначала растворяется в органическом растворителе, а затем в этот раствор постепенно вводится СК-СО₂. Растворение СО₂ в органическом растворителе приводит к большому объемному расширению последнего, что, в свою очередь, снижает растворимость вещества в расширенном органическом растворителе. В состоянии перенасыщения инициируется зародышеобразование и происходит осаждение растворенных веществ. После получения мелких кристаллов с узким гранулометрическим составом остаточный растворитель удаляют путем подачи дополнительного СК-СО₂. И после сброса давления образуется сухой осадок. Было доказано, что при использовании методики GAS содержание остаточного органического растворителя в конечной микронизированной форме ниже показателей, установленных Фармакопеей США (USP) [29]. Кроме того, наиболее важной особенностью этого процесса является эффективный контроль размера частиц, морфологии и гранулометрического состава [30]. Однако на гранулометрический состав и морфологию осажденных частиц в процессе GAS влияют рабочие параметры: давление, температура, начальная концентрация растворенного вещества, скорость потока антирастворителя и скорость перемешивания [25].

В работе был использован насыщенный раствор МК в ДМСО с последующим введением СК-СО₂. Параметры состояния выбирались с учетом растворимости ДМСО в СК-СО₂ согласно работе [31] таким образом, чтобы мольная доля ДМСО в СК-СО₂ составляла 10 % и 25 %.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для решения поставленных задач были использованы коммерчески доступные соединения производства «Sigma Aldrich»: 2-[(2,3-диметилфенил)амино]бензойная кислота (МК) (CAS 61-68-7), диметилсульфоксид (ДМСО) (CAS 2206-27-1) и диоксид углерода СО₂ (ОСЧ, ГОСТ 8050–85; СО₂ 99,995 %, Н₂О < 0,001 %) производства ОАО БКЗ (г. Балашиха, Московская обл., ОАО «Линде Газ Рус», Linde Group). Контроль и поддержание давления при проведении экспериментов осуществляли при помощи специально разработанной системы высокого давления, включающей ручной пресс (High Pressure Equipment Company, PA, USA) и систему вентиля для подачи СО₂ в ячейку. Данная система позволяет проводить эксперименты ЯМР при температурах до 90 °С и давлениях до 30 МПа. МК и фиксированный объем ДМСО (100 мкл) предварительно помещали в специальную ячейку, выполненную из монокристалла сапфира, которую подключали к системе высокого давления. Схема приставки для получения спектров ЯМР под высоким давлением описана в нашей предыдущей публикации [32]. В качестве внешнего стандарта использовали запаянный капилляр с D₂O, который был необходим для корректной настройки однородности магнитного поля и также предварительно помещался в ячейку с образцом. Изменение мольной доли ДМСО при проведении эксперимента осуществляли за счет контроля параметров состояния внутри ячейки. Регистрацию спектров ЯМР проводили при увеличении давления посредством

добавления СО₂. Были определены параметры пространственной структуры молекулы МК в СК-СО₂ с добавлением 25 % и 10 % ДМСО, выступающего в роли соразтворителя.

Регистрацию спектров ЯМР производили на спектрометре Bruker Avance III 500, регулирование температуры осуществляли с помощью блока температурного контроля Bruker (BVT-2000) в сочетании с блоком охлаждения Bruker (BCU 05). Эксперименты проводили при температуре 45 °С и давлениях 9 МПа (25 % ДМСО) и 10 МПа (10 % ДМСО). Параметры проведения эксперимента, а также определение доли соразтворителя выполняли по условиям, указанным в работе [33].

Квантово-химические расчеты были реализованы на базе программного пакета Gaussian, в рамках теории функционала плотности (DFT) с использованием метода B3LYP и базисного набора 6-311+G (2d, p) и позволили получить пространственные структуры четырех низкоэнергетических конформеров МК. Стабильность полученных структур подтверждена отсутствием мнимых частот.

На первом этапе было необходимо провести однозначное отнесение резонансных сигналов в ¹H спектрах ЯМР МК в смешанном растворителе СК-СО₂+ДМСО при различных параметрах состояния. Спектры ¹H были зарегистрированы с использованием импульсной программы «zg», входящей в комплект программного обеспечения спектрометра TopSpin 3.6.1 и состоящей из предскановой задержки d1, необходимой для возвращения спиновой системы к состоянию равновесия, 90°-ного радиочастотного импульса, выводящего систему из равновесного состояния и отклоняющего вектор магнитной индукции на 90° от оси Z, и времени регистрации спада свободной индукции (возвращения системы к равновесному состоянию). Регистрируемый спектральный диапазон — 16,8 ppm, мощность на предусилителе выставляли автоматически (RG = 16), количество сканирований — 1 скан, число точек — 32768 [34].

Для регистрации 2D NOESY ЯМР-спектров была использована импульсная программа «poesygrprhpr», позволяющая генерировать последовательность, состоящую из трех 90°-ных радиочастотных импульсов, разделенных задержкой d₀ между первым и вторым импульсами, задержкой времени смешивания d₈ между вторым и третьим импульсами и временем регистрации спада свободной индукции. Спектры NOESY были зарегистрированы с различными временами смешивания от 0,5 до 0,9 с с шагом 0,1 с. Спектральный диапазон был выбран в соответствии с параметрами ¹H ЯМР-эксперимента (16,8 ppm по обеим осям); время релаксации — 1,3 с, количество сканирований — 8 сканов, количество точек — 128 и 2048 по осям F1 и F2 соответственно [35–38].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ спектральных данных объекта исследования в смешанном растворителе СК-СО₂+ДМСО показал, что на ¹H спектре ЯМР (см. рис. 1) было зарегистрировано девять резонансных сигналов. В области сильного поля от 0 до 3 ppm расположены два резонансных сигнала — H15 (1,95 ppm) и H14 (2,09 ppm), относящиеся к двум метильным группам в структуре молекулы. В области от 6 до 8 ppm расположены сигналы, принадлежащие СН-группам молекулы, — H11/12

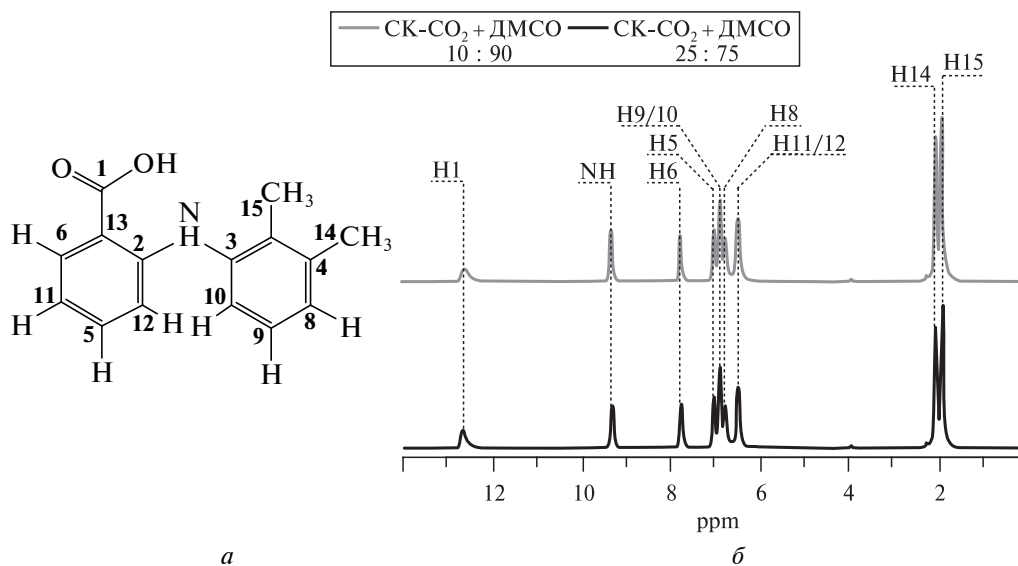


Рис. 1. Объект исследования и его ^1H ЯМР-спектры:

a — химическая структура молекулы МК; *б* — ^1H спектр МК в СК- CO_2 + ДМСО при соотношении 90 : 10 (серый спектр) и 75 : 25 (черный спектр). В качестве внешнего стандарта использовался запаянный капилляр с D_2O

(6,50 ppm), Н8 (6,79 ppm), Н9/10 (6,61 ppm), Н5 (7,04 ppm), Н6 (7,79 ppm). Как видно из рисунка, часть сигналов протонов СН-групп находятся очень близко друг к другу, однако за счет последующего применения 2D подходов удалось однозначно установить значения их химических сдвигов. В области слабого поля от 9 до 14 ppm расположены сигналы протонов NH- и OH-групп молекулы — NH (9,32 ppm), Н1 (12,60 ppm). Однозначное отнесение резонансных сигналов было проведено на основе 2D-подходов (^1H — ^1H TOCSY, ^1H — ^{13}C HSQC и ^1H — ^{13}C HMBSC), литературных данных и справочной информации о химических сдвигах и форме сигналов, присущих характеристическим группам (см. табл. 1).

Полученные данные о соответствии сигналов в ^1H ЯМР характеристическим группам в структуре молекулы МК являются надежной основой для дальнейшего анализа 2D NOESY спектров с различными временами смешивания. По данным спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера (NOESY) удалось идентифицировать 10 внутримолекулярных пространственных корреляций (рис. 2), обусловленных диполь-дипольным взаимодействием (Н1—NH, Н1—Н6, Н1—Н9/10, Н1—Н11/12, NH—Н5, NH—Н9/10, NH—Н11/12, Н6—Н11/12, Н5—Н11/12, Н9/10—Н11/12).

Все полученные в результате квантово-химических расчетов структуры конформеров молекулы МК отличаются взаимным расположением карбоксильной группы и фенильных колец относительно друг друга. Наблюдаемые изменения пространственной структуры можно охарактеризовать изменением двугранных углов τ_1 (O_2 — C_1 — C_{13} — C_2), τ_2 (C_{13} — C_2 — N_1 — C_3) и τ_3 (C_2 — N_1 — C_3 — C_7), приведенных в табл. 2. Однако, как показано в работе [39], только конформеры, обусловленные поворотом фенильных колец и отличающиеся значением угла τ , способны повлиять на конечную полиморфную форму, получаемую

Таблица 1

Значения химических сдвигов сигналов в 1D-спектрах ЯМР, а также внутримолекулярных корреляций HMBC, HSQC, TOCSY, определенных из 2D-спектров молекулы мефенамовой кислоты

$\delta^{13}\text{C}$	^1H	H	HMBC	HSQC	TOCSY			^{13}C
					20 мс	60 мс	100 мс	
170,18	H1(OH)	12,98	—	—	OH-NH	OH-NH	OH-NH	C1
148,72	NH	9,45	C2-H5 C2-H6	— —	— —	— —	NH-H9/10 NH-H8	C2
138,31	—	—	C3-H15	—	—	—	—	C3
137,85	—	—	C4-H9/10	—	—	—	—	C4
134,17	H5	7,3	C5-H6	C5-H5	H5-H6 H5-H11/12	H5-H6 H5-H11/12	H5-H6 H5-H11/12	C5
131,68	H6	7,88	—	C6-H6	H6-H11/12	H6-H11/12	H6-H11/12	C6
131,21	—	—	C7-H15 C7-H9/10	—	—	—	—	C7
126,39	H8	7,02	C8-H14	C8-H8	—	H8-H14 H8-H15	H8-H14 H8-H15	C8
126,00	H9/H10	7,122	C9-H8	C9-H9/10	—	H9/10-H14	H9/10-H14	C9
122,17			—	C10-H9/10		—	H9/10-H15	H9/10-H15
116,23	H11/H12	6,68	—	C11-H11/12	—	—	—	C11
113,06			—	C12-H11/12				—
111,2	—	—	C13-H11/12	—	—	—	—	C13
20,19	H14	2,28	—	C14-H14	—	—	—	C14
13,63	H15	2,09	—	C15-H15	—	—	—	C15

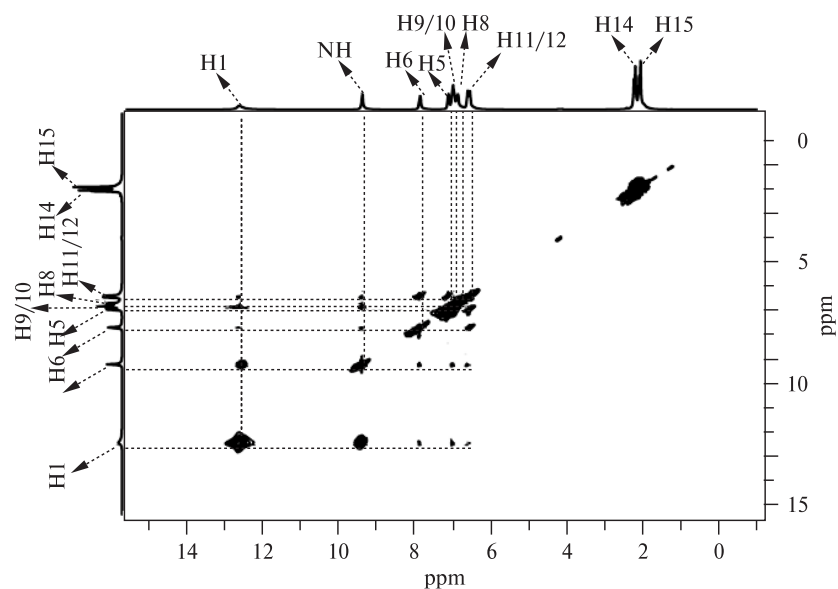


Рис. 2. ^1H - ^1H NOESY спектр МК в СК- CO_2 + ДМСО, зарегистрированный при 45 °С, 10 МПа

Таблица 2

Значения двугранных углов молекулы МК, определяющие основные типы внутримолекулярного движения

Конформеры	Значение двугранного угла		
	τ_1 (O ₂ —C ₁ —C ₁₃ —C ₂)	τ_2 (C ₁₃ —C ₂ —N ₁ —C ₃)	τ_3 (C ₂ —N ₁ —C ₃ —C ₇)
A	176,2	-169,0	-135,0
B	-178,1	-176,5	-76,6
C	-6,6	-166,1	-135,5
D	5,3	-176,4	-77,4
Form I	178,6	-179,4	-112,0
Form II	-177,4/-177,4	176,3/-179,6	68,2/-81,0
Form III	-177,4	-179,6	-80,8

в процесс микронизации, так как кристаллические формы демонстрируют сопоставимые значения τ_1 и τ_2 . Поэтому в рамках данной работы имеет смысл рассчитать доли лишь для данных конформеров.

Среди всех наблюдаемых в эксперименте NOESY кросс-пиков сигналов, соответствующих диполь-дипольному взаимодействию между спинами атомов водорода, в качестве референсного расстояния было выбрано — Н6—Н11/12, а также конформационно-определяемое — Н9/10—Н11/12. Как показано на спектре ¹Н ЯМР, сигналы, относящиеся к группам молекулы Н11 и Н12, а также Н9 и Н10 полностью или частично перекрываются. Как показано в литературе [40], для органических соединений в газовой и флюидной фазах характерны малые времена T₂ релаксации, что приводит к уширению линий. В связи с этим, в качестве референсного расстояния было выбрано — Н6—Н11/12 из-за того, что сигналы, относящиеся к протонам Н11 и Н12, в связи с уширением линии значительно перекрываются, в отличие от органических растворителей. Поэтому раздельное интегрирование сигналов для рассматриваемых спиновых систем не представляется возможным с достаточной точностью. В силу полного или частичного перекрывания некоторых сигналов, по аналогии с Н6—Н11/12 были выбраны в качестве конформационно-определяемых —

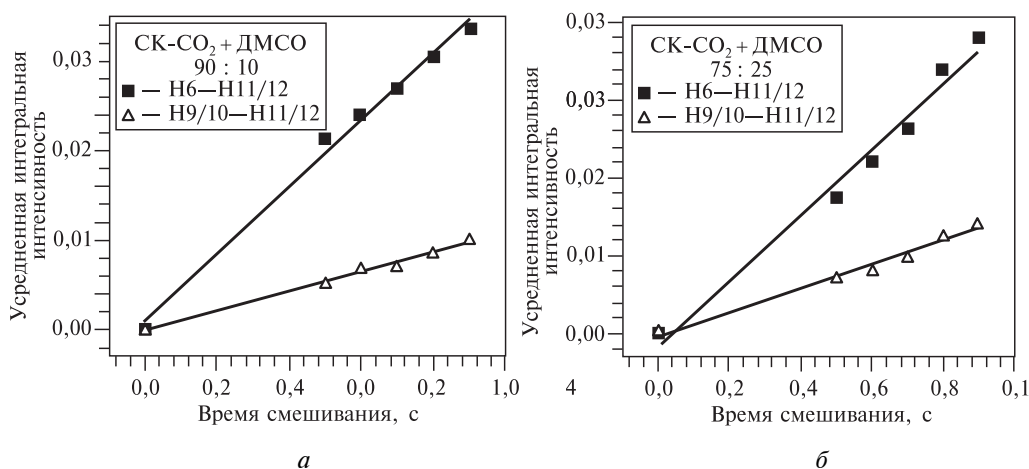


Рис. 3. Графики зависимостей усредненных интегральных интенсивностей кросс-пиков от времени смешивания по данным 2D NOESY МК в СК-СО₂+ДМСО при различном соотношении растворителей:

a — график зависимости кросс-пиков сигналов, соответствующих группам Н6—Н11/12 и Н9/10—Н11/12 при соотношении СК-СО₂+ДМСО = 90 : 10; *б* — график зависимости кросс-пиков сигналов, соответствующих группам Н6—Н11/12 и Н9/10—Н11/12 при соотношении СК-СО₂+ДМСО = 75 : 25

расстояния Н9/10—Н11/12, а не Н10—Н12. Из анализа значений выбранных расстояний можно заключить, что референсная величина практически не зависит от конформации молекулы и ее значение варьируется в пределах $\pm 0,02 \text{ \AA}$. По значениям расстояния Н9/10—Н11/12, которое использовалось для расчета долей конформеров, связанных с движением фенильных колец относительно друг друга, можно выделить две группы конформеров, а именно конформеры А и С, для которых усредненное по группе конформеров значение расстояний составляет $3,11 \pm 0,04 \text{ \AA}$, и конформеры В и D — $4,62 \pm 0,04 \text{ \AA}$. Усреднение расстояний проводилось как $1/r^6$ для конформеров с близкими величинами расстояний, по этому принципу были сгруппированы рассматриваемые конформеры МК.

Для определения экспериментальных значений межъядерных расстояний при оценке долей конформеров молекулы МК в СК-СО₂+ДМСО были получены графики зависимостей усредненных интегральных интенсивностей кросс-пиков $\bar{I}(\tau_m)$ (см. формулу (1)) от времени смешивания, используемого при регистрации спектров (от 0,5 до 0,9 с) (рис. 3), и определены соответствующие скорости кросс-релаксации, которые составили $3,7500 \pm 0,1632$ и $1,0900 \pm 0,0518$ для определяемых расстояний Н6—Н11/12 и Н9/10—Н11/12 с соотношением СК-СО₂ к ДМСО, как 90 : 10 (45 °С, 10 МПа), в то время как при 45 °С и 9 МПа скорости кросс-релаксации для данных расстояний составили $4,1800 \pm 0,2848$ и $1,5600 \pm 0,0853$ соответственно.

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

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.

В рамках модели изолированной спиновой пары, согласно уравнению (2) [41—46], были определены экспериментальные конформационно-определяемые расстояния r_{exp} , которые составили $3,25 \pm 0,07 \text{ \AA}$ для Н9/10—Н11/12 при соотношении СК-СО₂ к ДМСО, как 75 : 25, в то время как при соотношении 90 : 10, т.е при увеличении мольной доли СК-СО₂, данные расстояния составляют $3,39 \pm 0,05 \text{ \AA}$.

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

где r_0 — референсное расстояние, полученное из квантово-химических расчетов, σ_0 — скорость кросс-релаксации для референсного расстояния, σ_{exp} — скорость кросс-релаксации конформационно-определяемого расстояния.

Все полученные экспериментальные данные на основе экспериментов 2D NOESY МК в СК-СО₂+ДМСО при различных параметрах состояния (318,15 К (45 °С), 9 МПа (25 % ДМСО) и 10 МПа (10 % ДМСО)) и квантово-химических расчетов приведены в табл. 3.

С использованием уравнения (3) двухпозиционного обмена:

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

(где X_1 — процентная доля одной из анализируемых групп конформеров, r_1 , r_2 — значения конформационно-определяемых расстояний для анализируемых групп конформеров, r_{exp} — значение конформационно-определяемого расстояния, полученное из эксперимента NOESY) получены графики зависимостей разницы между расчетными и экспериментальными значениями конформационно-определяемых расстояний и долями конформеров (серая и черная линии), а также погрешность определения значения экспериментального расстояния (пунктирная линия) (рис. 4). Минимумы значений на графиках соответствуют наиболее вероятным значениям долей конформеров, а пересечение прямой погрешности с линиями определяет величину погрешности. На рис. 5 в виде диаграмм приведены результаты по расчету долей конформеров молекулы МК в ДМСО и в СК-СО₂+ДМСО при 45 °С, 9 МПа (25 % ДМСО) и 10 МПа (10 % ДМСО).

Проведенное сравнение результатов расчета долей конформеров молекулы МК в чистом ДМСО и в СК-СО₂ с различным содержанием ДМСО показало, что добавление СК-СО₂ в систему имитирует начальный этап процесса микронизации GAS с целью проверки возможности использования данного подхода для мониторинга и контроля конформационного полиморфизма. А именно, изменяются ли доли конформеров, соответствующие полиморфным формам Form I, Form II МК. Изменение долей конформеров в процессе добавления СК-СО₂ в систему при различных давлениях свидетельствует о возможности использования подхода GAS для контроля полиморфной формы при микронизации.

Таблица 3

Таблица приведенных интегральных интенсивностей, скоростей кросс-релаксации, расчетных и экспериментальных межатоминых расстояний в структуре молекулы МК в СК-СО₂+ДМСО

СК-СО ₂ + ДМСО	Конфор- меры	Значение расстояния, Å	Расстояние	Время смешивания, с	Приведенная интегральная интенсивность	Скорость кросс-релаксации (×10 ⁻²)	Поперешность (×10 ⁻²)	Значение эксп. расстояния, Å
90 : 10 (45 °С, 10 МПа)	A-D	2,76 (Референс)	H6-H11/12	0,5	0,0214	3,75	0,16	2,76
				0,6	0,0239			
				0,7	0,0269			
				0,8	0,0305			
				0,9	0,0338			
	A+C/B+D	3,11/4,62	H9/10-H11/12	0,5	0,0052	1,09	0,05	3,39 ± 0,05
				0,6	0,0068			
				0,7	0,007			
				0,8	0,0086			
				0,9	0,0101			
75 : 25 (45 °С, 9 МПа)	A-D	2,76 (Референс)	H6-H11/12	0,5	0,0175	4,18	0,28	2,76
				0,6	0,0222			
				0,7	0,0263			
				0,8	0,0336			
				0,9	0,0379			
	A+C/B+D	3,11/4,62	H9/10-H11/12	0,5	0,0073	1,56	0,09	3,25 ± 0,07
				0,6	0,0082			
				0,7	0,0101			
				0,8	0,0125			
				0,9	0,0143			

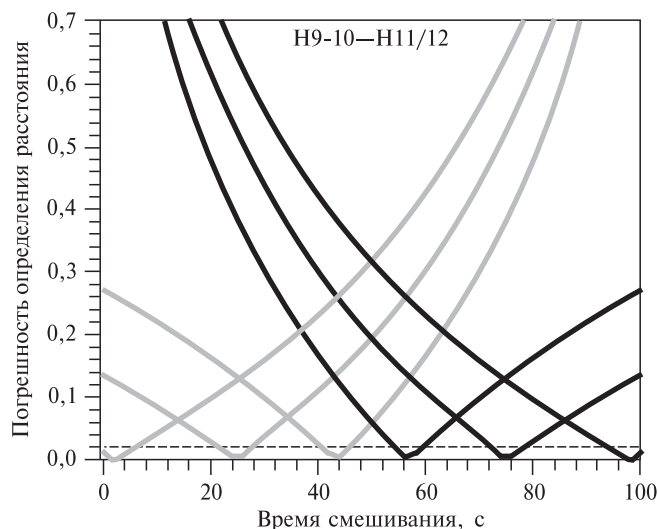


Рис. 4. График зависимостей разницы между расчетным и экспериментальными значениями конформационно-определяемого расстояния и долей конформеров

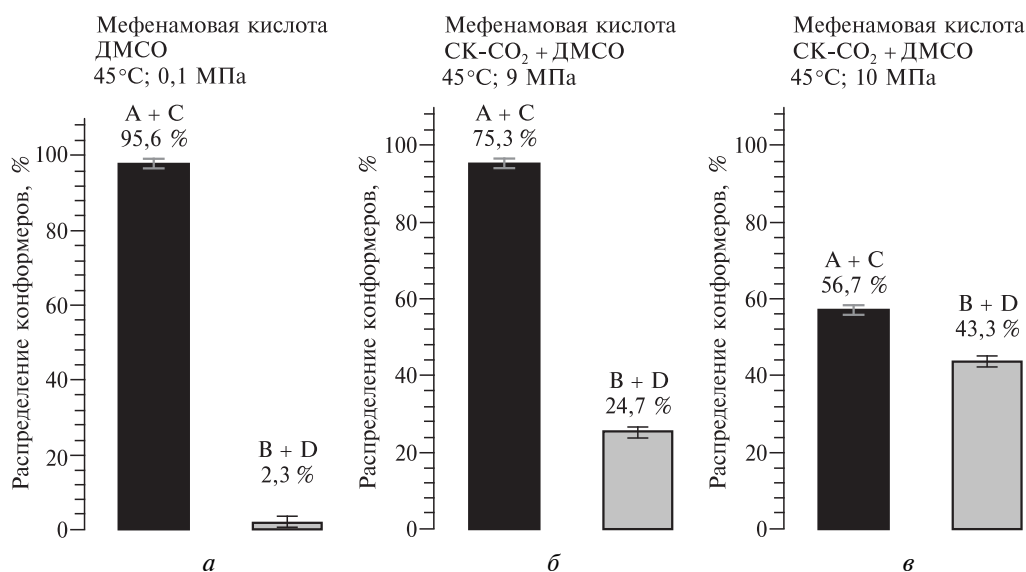


Рис. 5. Диаграммы распределения конформеров для раствора мекенамовой кислоты в ДМСО (а) и в СК-СО₂+ДМСО при различных параметрах состояния (б и в) на основе экспериментальных данных 2D NOESY

ВЫВОДЫ

В работе проведен конформационный анализ молекулы МК в ДМСО при добавлении СК-СО₂. На основе данных 2D NOESY получена информация о долях групп конформеров молекулы МК в СК-СО₂+ДМСО, обусловленных лабильностью 2,3-диметилфенильного кольца. Так, в данной работе при изменении давления на 1 МПа наблюдается смещение долей конформеров на 18,6 %, что является вполне существенным. Полученная в ходе работы информация будет полезна для подбора параметров проведения микронизации методом GAS.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (контракты № 01201260481 и № 0120095082), Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-29-06008, грант № 20-43-370011) и Совета по грантам Президента Российской Федерации (проект МК-662.2021.1.3). Эксперимент по ЯМР-спектроскопии был проведен на уникальной научной установке (<http://www.ckr-rf.ru/usu/503933/>) Института химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук (ИХР РАН) (Россия).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Abdul Mudalip S.K., Abu Bakar M.R., Jamal P., Adam F.* // J. Chem. Eng. Data. 2013. Vol. 58. No 12. P. 3447.
2. *Abuzar S.M., Hyun S.M., Kim J.H., Park H.J., Kim M.S., Park J.S., Hwang S.J.* // Int. J. Pharm. 2018. Vol. 538. No 1–2. P. 1.
3. *Türk M.* // J. Supercrit. Fluids. 2009. Vol. 47. No 3. P. 537.
4. *Sodeifian G., Sajadian S.A.* // Chem. Eng. Res. Des. 2019. Vol. 142. P. 268.
5. *McBride A.A., Price D.N., Lamoureux L.R., Elmaoued A.A., Vargas J.M., Adolphi N.L., Muttill P.* // Mol. Pharm. 2013. Vol. 10. No 10. P. 3574.
6. *Lee H.-J., Kang J.-H., Lee H.-G., Kim D.-W., Rhee Y.-S., Kim J.-Y., Park E.-S., Park C.-W.* // Drug Des. Devel. Ther. 2016. Vol. 10. P. 4017.
7. *Chang X., Bao J., Shan G., Bao Y., Pan P.* // Cryst. Growth Des. 2017. Vol. 17. No 5. P. 2498.
8. *Kumar S., Gokhale R., Burgess D.J.* // Int. J. Pharm. 2014. Vol. 471. No 1–2. P. 303.
9. *Salmani H., Zorin I.M., Akentiev A.V., Bilibin A.Y.* // Polym. Sci. Ser. A 2016. Vol. 58. No 5. P. 744.
10. *Careno S., Boutin O., Badens E.* // J. Cryst. Growth, North-Holland. 2012. Vol. 345. No 1. P. 34.
11. *Martín A., Cocero M.J.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 2008. Vol. 60. No 3. P. 339.
12. *Kalantarian P.* // Int. J. Nanomedicine. 2010. Vol. 5. No 1. P. 763.
13. *Wang W., Liu G., Wu J., Jiang Y.* // J. Supercrit. Fluids. 2013. Vol. 74. P. 137.
14. *Prosapio V., De Marco I., Reverchon E.* // J. Supercrit. Fluids. 2018. Vol. 138. P. 247.
15. *Saadati Ardestani N., Amani M., Moharrery L.* // Chem. Eng. Res. Des. 2020. Vol. 159. P. 529.
16. *Yokoyama C., Iwabuchi A., Takahashi S., Takeuchi K.* // Fluid Phase Equilib. 1993. Vol. 82. P. 323.
17. *Reverchon E., Della Porta G., Di Trolio A., Pace S.* // Ind. Eng. Chem. Res. 1998. Vol. 37. No 3. P. 952.
18. *Dehghani F., Foster N.R.* // Curr. Opin. Solid State Mater. Sci. 2003. Vol. 7. No 4–5. P. 363.
19. *Oparin R.D., Vaksler Y.A., Krestyaninov M.A., Idrissi A., Shishkina S.V., Kiselev M.G.* // J. Supercrit. Fluids. 2019. Vol. 152. I. 104547
20. *Türk M., Bolten D.* // J. Supercrit. Fluids. 2016. Vol. 116. P. 239.
21. *B.N. Swanson* // Rev. Clin. Basic Pharm. 1985. Vol. 5. No 1–2. P. 1.
22. *Yeo S.-D., Lim G.-B., Debendetti P.G., Bernstein H.* // Biotechnol. Bioeng. 1993. Vol. 41. No 3. P. 341.
23. *Esfandiari N., Ghoreishi S.M.* // J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 2015. Vol. 50. P. 31.
24. *Su C.S., Tang M., Chen Y.P.* // Chem. Eng. Process. Process Intensif. 2009. Vol. 48. N. 1. P. 92.
25. *Esfandiari N., Ghoreishi S.M.* // J. Supercrit. Fluids. 2013. Vol. 84. P. 205.
26. *Esfandiari N., Ghoreishi S.M.* // AAPS PharmSciTech. 2015. Vol. 16. No 6. P. 1263.
27. *Warwick B., Dehghani F., Foster N.R., Biffin J.R., Regtop H.L.* // Ind. Eng. Chem. Res. 2002. Vol. 41. No 8. P. 1993.
28. *Muhrer G., Mazzotti M.* // Biotechnol. Prog. 2003. Vol. 19. No 2. P. 549.
29. *Foster N., Mammucari R., Dehghani F., Barrett A., Bezanehtak K., Coen E., Combes G., Meure L., Ng A., Regtop H. L., Tandy A.* // Ind. Eng. Chem. Res. 2003. Vol. 42. No 25. P. 6476.

30. Dodds S., Wood J.A., Charpentier P.A. // Ind. Eng. Chem. Res. 2007. Vol. 46. No 24. P. 8009.
31. ndreatta A.E., Florusse L.J., Bottini S.B., Peters C.J. // J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 42. No 1. P. 60.
32. Khodov I., Dyshin A., Efimov S., Ivlev D., Kiselev M. // J. Mol. Liq. 2020. Vol. 309. Art. No 113113.
33. Andreatta A.E., Florusse L.J., Bottini S.B., Peters C.J. // J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 42. No 1. P. 60.
34. Liu M., Mao X. A., Ye C., Huang H., Nicholson J.K., Lindon J.C. // J. Magn. Reson. 1998. Vol. 132. No 1. P. 125.
35. Kessler H., Oschkinat H., Griesinger C., Bermel W. // J. Magn. Reson. 1986. Vol. 70. No 1. P. 106.
36. Stonehouse J., Adell P., Shaka A.J., Keeler J. // J. Am. Chem. Soc. 1994. Vol. 116. No 13. P. 6037.
37. Stott K., Keeler J., Hwang T.L., Shaka A.J., Stonehouse J. // J. Am. Chem. Soc. 1995. Vol. 117. No 14. P. 4199.
38. Thrippleton M.J., Keeler J. // Angew. Chemie — Int. Ed. 2003. Vol. 42. No 33. P. 3938.
39. Seethalekshmi S., Row T.N G. // Cryst. Growth Des. 2012. Vol. 12. No 8. P. 4283.
40. Aganov A.V., Klochkov V.V., Samitov Y.Y. // Russ. Chem. Rev. 1985. Vol. 54. No 10. P. 1585.
41. 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.
42. 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.
43. Белов К.В., Еремеев И.Е., Соборнова В.В., Клочков В.В., Ходов И.А. // Макрогетероциклы. 2020. Т. 13. № 1. С. 44.
44. Efimov S.V., Khodov I.A., Ratkova E.L., Kiselev M.G., Berger S., Klochkov V.V. // J. Mol. Struct. 2016. Vol. 1104. P. 63.
45. 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.
46. Gamov G.A., Khodov I.A., Belov K.V., Zavalishin M.N., Kiselev A.N., Usacheva T.R., Sharinin V.A. // J. Mol. Liq. 2019. Vol. 283. P. 825.

CONFORMATIONAL ANALYSIS OF MEPHENAMIC ACID IN SC-CO₂-DMSO BY 2D NOESY METHOD

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

L.A.E. Batista De Carvalho — University of Coimbra, Coimbra, Portugal. ORCID: 0000-0002-8059-8537. E-mail: analmbc@gmail.com

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

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

V.V. Sobornova — G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, Russia; Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Ivanovo, Russia. ORCID: 0000-0001-9505-0518. E-mail: sobornova2000@gmail.com

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

The spatial structure of mefenamic acid molecule was investigated by the 2D NOESY in SC-CO₂ with DMSO (25 % and 10 %). The results will be used to determine the optimal parameters of state for the micronization processing by GAS technique.

Key words: high-pressure NMR, SC-CO₂, mefenamic acid, 2D NOESY, small molecules, spatial structure

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Russia (contracts No. 01201260481 and No. 0120095082), by the Russian Foundation for Basic Research (grant No 18-29-06008; grant No 20-43-370011) and Council for Grants of the President of the Russian Federation, Russia (project MK-662.2021.1.3). The NMR spectroscopy experiment was performed using the molecular fluid spectroscopy facility (<http://www.ckp-rf.ru/usu/503933/>) of G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences (ISC RAS) (Russia).

REFERENCES

1. Abdul Mudalip S.K., Abu Bakar M.R., Jamal P., Adam F. // J. Chem. Eng. Data. 2013. Vol. 58. No 12. P. 3447.
2. Abuzar S.M., Hyun S.M., Kim J.H., Park H.J., Kim M.S., Park J.S., Hwang S.J. // Int. J. Pharm. 2018. Vol. 538. No 1–2. P. 1.
3. Türk M. // J. Supercrit. Fluids. 2009. Vol. 47. No 3. P. 537.
4. Sodeifian G., Sajadian S.A. // Chem. Eng. Res. Des. 2019. Vol. 142. P. 268.
5. McBride A.A., Price D.N., Lamoureux L.R., Elmaoued A.A., Vargas J.M., Adolphi N.L., Muttill P. // Mol. Pharm. 2013. Vol. 10. No 10. P. 3574.
6. Lee H.-J., Kang J.-H., Lee H.-G., Kim D.-W., Rhee Y.-S., Kim J.-Y., Park E.-S., Park C.-W. // Drug Des. Devel. Ther. 2016. Vol. 10. P. 4017.
7. Chang X., Bao J., Shan G., Bao Y., Pan P. // Cryst. Growth Des. 2017. Vol. 17. No 5. P. 2498.
8. Kumar S., Gokhale R., Burgess D.J. // Int. J. Pharm. 2014. Vol. 471. No 1–2. P. 303.
9. Salmani H., Zorin I.M., Akentiev A.V., Bilibin A.Y. // Polym. Sci. Ser. A 2016. Vol. 58. No 5. P. 744.
10. Careno S., Boutin O., Badens E. // J. Cryst. Growth, North-Holland. 2012. Vol. 345. No 1. P. 34.
11. Martín A., Cocero M.J. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2008. Vol. 60. No 3. P. 339.
12. Kalantarian P. // Int. J. Nanomedicine. 2010. Vol. 5. No 1. P. 763.
13. Wang W., Liu G., Wu J., Jiang Y. // J. Supercrit. Fluids. 2013. Vol. 74. P. 137.
14. Prosapio V., De Marco I., Reverchon E. // J. Supercrit. Fluids. 2018. Vol. 138. P. 247.
15. Saadati Ardestani N., Amani M., Moharrery L. // Chem. Eng. Res. Des. 2020. Vol. 159. P. 529.
16. Yokoyama C., Iwabuchi A., Takahashi S., Takeuchi K. // Fluid Phase Equilib. 1993. Vol. 82. P. 323.
17. Reverchon E., Della Porta G., Di Trollo A., Pace S. // Ind. Eng. Chem. Res. 1998. Vol. 37. No 3. P. 952.
18. Dehghani F., Foster N.R. // Curr. Opin. Solid State Mater. Sci. 2003. Vol. 7. No 4–5. P. 363.
19. Oparin R.D., Vaksler Y.A., Krestyaninov M.A., Idrissi A., Shishkina S.V., Kiselev M.G. // J. Supercrit. Fluids 2019. Vol. 152. I. 104547
20. Türk M., Bolten D. // J. Supercrit. Fluids. 2016. Vol. 116. P. 239.
21. B.N. Swanson // Rev. Clin. Basic Pharm. 1985. Vol. 5. No 1–2. P. 1.
22. Yeo S.-D., Lim G.-B., Debendetti P.G., Bernstein H. // Biotechnol. Bioeng. 1993. Vol. 41. No 3. P. 341.
23. Esfandiari N., Ghoreishi S.M. // J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 2015. Vol. 50. P. 31.
24. Su C.S., Tang M., Chen Y.P. // Chem. Eng. Process. Process Intensif. 2009. Vol. 48. N. 1. P. 92.
25. Esfandiari N., Ghoreishi S.M. // J. Supercrit. Fluids. 2013. Vol. 84. P. 205.
26. Esfandiari N., Ghoreishi S.M. // AAPS PharmSciTech 2015. Vol. 16. No 6. P. 1263.
27. Warwick B., Dehghani F., Foster N.R., Biffin J.R., Regtop H.L. // Ind. Eng. Chem. Res. 2002. Vol. 41. No 8. P. 1993.
28. Muhrer G., Mazzotti M. // Biotechnol. Prog. 2003. Vol. 19. No 2. P. 549.
29. Foster N., Mammucari R., Dehghani F., Barrett A., Bezanehtak K., Coen E., Combes G., Meure L., Ng A., Regtop H. L., Tandy A. // Ind. Eng. Chem. Res. 2003. Vol. 42. No 25. P. 6476.
30. Dodds S., Wood J.A., Charpentier P.A. // Ind. Eng. Chem. Res. 2007. Vol. 46. No 24. P. 8009.

31. *Andreatta A.E., Florusse L.J., Bottini S.B., Peters C.J.* // J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 42. No 1. P. 60.
 32. *Khodov I., Dyshin A., Efimov S., Ivlev D., Kiselev M.* // J. Mol. Liq. 2020. Vol. 309. Art. No 113113.
 33. *Andreatta A.E., Florusse L.J., Bottini S.B., Peters C.J.* // J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 42. No 1. P. 60.
 34. *Liu M., Mao X. A., Ye C., Huang H., Nicholson J.K., Lindon J.C.* // J. Magn. Reson. 1998. Vol. 132. No 1. P. 125.
 35. *Kessler H., Oschkinat H., Griesinger C., Bermel W.* // J. Magn. Reson. 1986. Vol. 70. No 1. P. 106.
 36. *Stonehouse J., Adell P., Shaka A.J., Keeler J.* // J. Am. Chem. Soc. 1994. Vol. 116. No 13. P. 6037.
 37. *Stott K., Keeler J., Hwang T.L., Shaka A.J., Stonehouse J.* // J. Am. Chem. Soc. 1995. Vol. 117. No 14. P. 4199.
 38. *Thrippleton M.J., Keeler J.* // Angew. Chemie — Int. Ed. 2003. Vol. 42. No 33. P. 3938.
 39. *Seethalekshmi S., Row T.N G.* // Cryst. Growth Des. 2012. Vol. 12. No 8. P. 4283.
 40. *Aganov A.V., Klochkov V.V., Samitov Y.Y.* // Russ. Chem. Rev. 1985. Vol. 54. No 10. P. 1585.
 41. *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.
 42. *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.
 43. *Belov K.V., Ereemeev I.E., Sobornova V.V., Klochkov V.V., Khodov I.A.* // Macroheterocycles 2020. Vol. 13. No. 1. P. 44.
 44. *Efimov S.V., Khodov I.A., Ratkova E.L., Kiselev M.G., Berger S., Klochkov V.V.* // J. Mol. Struct. 2016. Vol. 1104. P. 63.
 45. *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.
 46. *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.
-
-