

Проблема проявления динамических процессов при решении задачи подтверждения подлинности органических соединений методом ЯМР-спектроскопии

Н. Е. Кузьмина, С. В. Моисеев*, А. И. Лутцева

Федеральное государственное бюджетное учреждение
“Научный центр экспертизы средств медицинского применения”
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский бульвар, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

Резюме. Зависимость числа, формы и положения линий в ЯМР-спектре от динамических процессов создает определенные трудности при подтверждении подлинности фармацевтической субстанции методом ЯМР-спектроскопии. **Цель работы:** рассмотреть примеры проявления внутримолекулярных динамических процессов, отрицательно влияющих на процедуру идентификации органического соединения методом ЯМР, и показать возможности и ограничения способов их снижения. **Материалы и методы:** для иллюстрации отрицательных эффектов динамических процессов использованы ЯМР-спектры ^1H и ^{13}C лекарственных субстанций: бусерелина ацетат, валсартан, гозерелина ацетат, йопромид, клопидогрел гидросульфат, омепразол, пророксан, рisperидон, трипторелина ацетат, эналаприла малеат. Пространственное строение конформеров устанавливали на основе данных ^1H - ^1H ROESY экспериментов. Квантово-химический расчет геометрических и термодинамических характеристик различных конформеров проведен методом PM3, электронных — AM1 с использованием программы HyperChem. **Результаты:** рассмотрены наиболее часто встречающиеся в экспертной практике внутримолекулярные динамические процессы: пирамидальная инверсия конфигурации атома азота в гетероциклическом соединении (рисперидон, пророксан, клопидогрел), вращение фрагментов молекул вокруг амидной связи (валсартан, йопромид, эналаприл), прототропные перегруппировки (бусерелин, гозерелин, омепразол, трипторелин). Изменение скорости обмена объяснено с позиции изменения системы внутри- и межмолекулярных невалентных взаимодействий. **Выводы:** показано, что использование традиционных приемов увеличения скорости динамических процессов (увеличение температуры и смена растворителя) не всегда позволяет устранить отрицательные эффекты внутримолекулярных превращений. Ограничения в применении способов нивелирования спектральных проявлений динамических процессов связаны с сильными внутримолекулярными невалентными взаимодействиями, которые препятствуют переводу скорости динамического процесса в область быстрого обмена. Проявление динамических процессов необходимо учитывать экспертам и производителям при подтверждении подлинности фармацевтических субстанций методом ЯМР-спектроскопии.

Ключевые слова: динамические эффекты; идентификация структуры; пирамидальная инверсия атома азота; прототропная таутомерия; заторможенное вращение; ЯМР-спектроскопия; бусерелин; валсартан; гозерелин; йопромид; клопидогрел; омепразол; пророксан; рisperидон; трипторелин; эналаприл

Для цитирования: Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Лутцева АИ. Проблема проявления динамических процессов при решении задачи подтверждения подлинности органических соединений методом ЯМР-спектроскопии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(1):63–76. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-1-63-76>

Контактное лицо: Моисеев Сергей Владимирович; MoiseevSV@expmed.ru

The Problem of Dynamic Process Manifestation in Identification of Organic Compounds by NMR Spectroscopy

N. E. Kuz'mina, S. V. Moiseev*, A. I. Luttsseva

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The number, shape and position of NMR spectral lines depend on dynamic processes, and this creates certain difficulties in identification of pharmaceutical substances by NMR spectroscopy. The aim of the paper was to study instances of manifestation of intramolecular dynamic processes that affect identification of organic compounds by NMR, and to illustrate the potential of the methods used for their reduction, as well as associated problems. Materials and methods: ^1H and ^{13}C spectra of the following pharmaceutical substances: buserelin acetate, valsartan, goserelin acetate, iopromide, clopidogrel hydrogensulfate, omeprazole, proroxan, risperidone, triptorelin acetate, and enalapril maleate were used to demonstrate negative effects of dynamic processes. The spatial structures of conformers were established by ^1H - ^1H ROESY experiments. The quantum-chemical calculation of geometric and thermodynamic characteristics of different conformers was carried out by the PM3 method, and electronic characteristics—by the AM1 method with the help of the HyperChem software. **Results:** the authors analysed intramolecular dynamic processes which are most commonly encountered in expert work: pyramidal inversion of nitrogen in a heterocyclic compound (risperidone, proroxan, clopidogrel), rotation of molecular fragments around the amide bond (valsartan, iopromide, enalapril), prototropic rearrangements (buserelin, goserelin, omeprazole, triptorelin). The change in exchange rates was explained from the perspective of the change in the system of intra- and intermolecular nonvalent interactions. **Conclusions:** the use of traditional methods for increasing the rate of dynamic processes (increasing the temperature and changing the solvent) does not always eliminate the negative effects of intramolecular transformations. Methods of smoothing the spectral manifestations of

dynamic processes have limited application due to strong intramolecular nonvalent interactions which prevent the conversion of the dynamic process rate into fast exchange. Experts and manufacturers should take into account the manifestation of dynamic processes during identification of pharmaceutical substances by NMR spectroscopy.

Key words: dynamic processes; structure identification; pyramidal nitrogen inversion; prototropic tautomerism; inhibited rotation; NMR spectroscopy; busserelin; valsartan; goserelin; iopromide; clopidogrel; omeprazole; proroxan; risperidone; triptorelin; enalapril

For citation: Kuz'mina NE, Moiseev SV, Luttseva AI. The problem of dynamic process manifestation in identification of organic compounds by NMR spectroscopy. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(1):63–76. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-1-63-76>

*Corresponding author: Sergey V. Moiseev; MoiseevSV@expmed.ru

Важным этапом контроля качества лекарственных средств (ЛС) является подтверждение их подлинности. В большинстве случаев действующими компонентами ЛС являются органические соединения. Один из наиболее эффективных методов их идентификации — метод спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), позволяющий подтвердить подлинность органических соединений без использования стандартных образцов путем определения структурных фрагментов молекулы и последовательности их соединения друг с другом. Характерной особенностью метода ЯМР по сравнению с традиционными фармакопейными методами подтверждения подлинности ЛС (инфракрасная и ультрафиолетовая спектроскопии, высокоэффективная жидкостная хроматография) является чувствительность к различного рода динамическим процессам — внутри- и межмолекулярным превращениям, которые сопровождаются изменением химического окружения структурных фрагментов молекул. Динамические процессы, протекающие в образце, могут изменять время спин-спиновой релаксации ядер и тем самым оказывать влияние на положение и форму резонансных линий. Зависимость формы и положения линий в ЯМР-спектре от динамических процессов, столь полезная при изучении, например, конформационных переходов, внутримолекулярных перегруппировок, образования и распада молекулярных ассоциаций, создает определенные трудности при идентификации соединения. В ходе проведения экспертиз качества фармацевтических субстанций и формирования «Атласа ЯМР-спектров лекарственных субстанций» нами накоплен большой объем информации о зависимости числа и формы сигналов в ЯМР-спектре от различного рода динамических процессов. Актуально обобщить опыт преодоления проблем, возникающих при решении задачи подтверждения подлинности ЛС методами ЯМР. Следует отметить, что ранее в литературе не акцентировалось внимание на практических аспектах влияния динамических эффектов на результаты экспертной деятельности при проверке подлинности лекарственных средств.

Цель работы — продемонстрировать проявления внутримолекулярных динамических процессов, отрицательно влияющих на процедуру иден-

тификации органического соединения методом ЯМР, и показать возможности и ограничения способов их снижения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали образцы фармацевтических субстанций бусерелина ацетат, валсартан, гозерелина ацетат, йопромид, клопидогрела гидросульфат, омепразол, пророксан, рисперидон, трипторелина ацетат, эналаприла малеат (рис. 1).

Регистрацию ЯМР-спектров исследованных образцов проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600 (США) с 5-мм мультядерным датчиком, оснащенным градиентной катушкой, при различных температурах и с использованием различных дейтерированных растворителей (D_2O , $CDCl_3$, $DMCO-d_6$, CD_3OD). Применяли стандартные импульсные последовательности с помощью программного обеспечения VNMRJ (версия 4.2). Параметры 1D экспериментов: температура — 25–95 °С, ширина спектра — 12 (1H) и 200 (^{13}C) ppm, угол поворота намагниченности — 45°, время задержки между импульсными последовательностями — 5 (1H) и 1 (^{13}C) с, автоматическая коррекция базовой линии спектра, ручная настройка фазы, калибровка шкалы химических сдвигов (δ) под сигнал растворителя [1].

Пространственное строение конформеров устанавливали на основе данных 1H - 1H ROESY экспериментов. Спектры ROESY регистрировали с количеством точек 2048×512 при 16 накоплениях на каждый инкремент t_1 , с задержкой между импульсами 1 с и временем смешивания 0,2 с.

Квантово-химический расчет геометрических и термодинамических характеристик различных конформеров проведен методом PM3, электронных — AM1 с использованием программы HyperChem (версия 8.0). Оптимизация геометрии считалась оконченной при достижении значения нормы градиента 0,1 ккал/(моль·Å).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Динамические процессы приводят к тому, что ядра в молекуле в определенные временные периоды находятся в различном окружении, следовательно, имеют разные резонансные частоты.

В простейшем случае вырожденного двухпозиционного обмена (наблюдаемое ядро может занимать два положения А и В с равной заселенностью) форма и положение сигналов наблюдаемого ядра зависят от скорости обмена положениями¹ [2–4].

В области медленного обмена спектр состоит из отдельных синглетов, соответствующих положениям ядра А и В, с резонансными частотами ν_A и ν_B соответственно. По мере роста скорости обмена оба синглета уширяются, смещаются по направлению друг к другу и, наконец, сливаются в один широкий малоинтенсивный сигнал (область промежуточного обмена, константа скорости обмена k сопоставима с разностью резонансных частот Δ_{AB}). При дальнейшем ускорении процесса обмена положениями (область быстрого обмена, $k > \Delta_{AB}$) усредненный сигнал все более сужается, вид спектра определяется усредненным во времени окружением исследуемого ядра. В системе с неравными заселенностями положений наблюдается сходная картина, однако при переходе из области медленного обмена в область промежуточного обмена уширение в большей степени испытывает менее интенсивный сигнал. Положение усредненного сигнала определяется степенью заселенности каждого из положений. Следует отметить, что чем больше величина Δ_{AB} , тем больший диапазон скоростей динамических процессов проявляется в виде характерных изменений спектра.

Таким образом, процедуру расшифровки спектров (соотнесение определенного сигнала соответствующему структурному фрагменту молекулы) усложняют динамические процессы:

- с медленной скоростью обмена (число сигналов больше числа структурных фрагментов, способных продуцировать сигнал);
- с промежуточной скоростью обмена (число сигналов меньше числа структурных фрагментов; сигнал не наблюдается тогда, когда его уширение достигает критического соотношения сигнал/шум).

В экспертной практике мы наиболее часто наблюдали отрицательные эффекты следующих внутримолекулярных динамических процессов:

- 1) аксиально-экваториальные конформационные превращения гетероциклических аминов, обусловленные инверсией конфигурации атома азота и инверсией цикла;
- 2) вращение фрагментов молекул вокруг одинарной связи;
- 3) внутримолекулярные перегруппировки.

Есть два пути решения проблемы отрицательных динамических эффектов: увеличение скорости динамических процессов или изменение заселенности положений путем смещения динамического

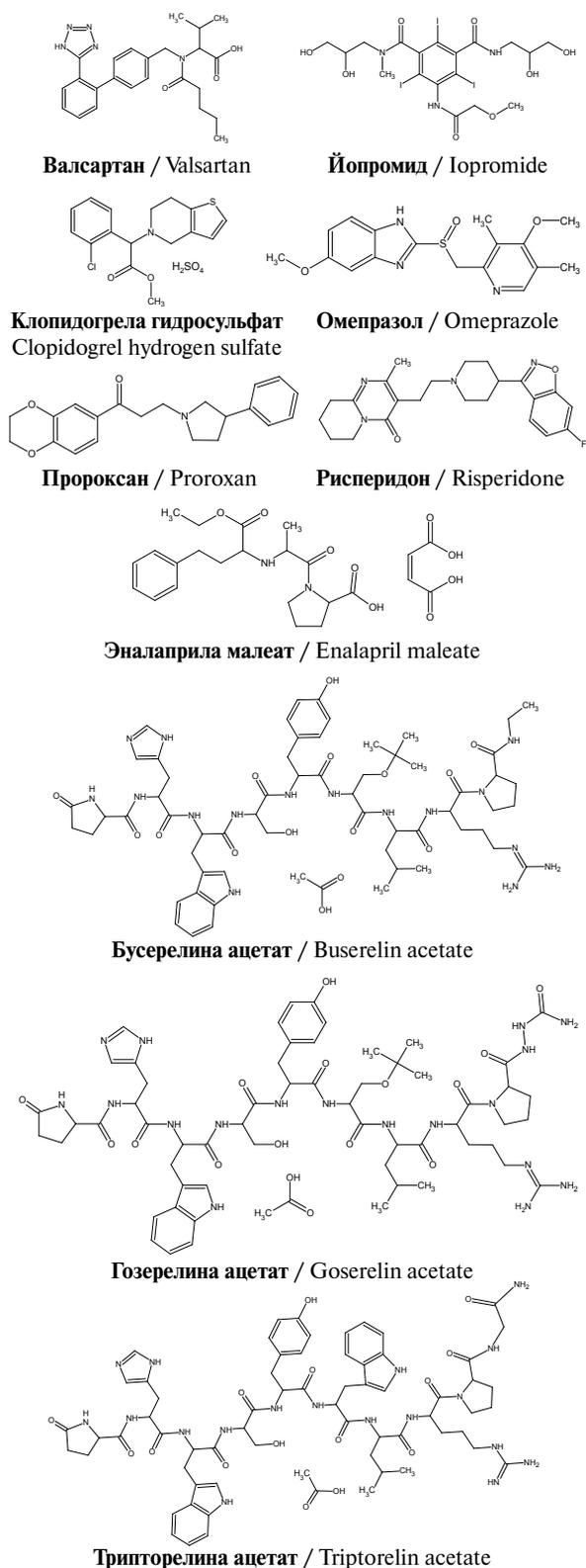


Рис. 1. Структурные формулы молекул исследованных соединений

Fig. 1. Structural formulas of the analysed compounds

¹ Гюнтер Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР. М.: Мир; 1984.

Устынюк Ю. Лекции по спектроскопии ядерного магнитного резонанса. Часть 1 (вводный курс). М.: Техносфера; 2016.

Воловенко ЮМ, Карцев ВГ, Комаров ИВ, Туров АВ, Хиля ВП. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса для химиков. М.: МБФНП; 2011.

равновесия. Основными факторами, влияющими на скорость динамического процесса и динамическое равновесие, являются температура и растворитель² [5–9]. Принято считать, что, варьируя эти параметры ЯМР-эксперимента, можно достичь соответствия между числом сигналов в спектре и числом структурных фрагментов, продуцирующих сигнал, и существенно улучшить качество спектра за счет увеличения разрешенности сигналов. Приведем конкретные примеры отрицательных динамических эффектов.

Пирамидальная инверсия атома азота, дополняемая инверсией цикла

Молекулы многих биоактивных соединений содержат в своем составе азотсодержащие гетероциклы, для которых характерна пирамидальная инверсия атома азота — внутримолекулярный переход sp^3 -конфигурации из одной энантиомерной формы в другую через промежуточную плоскую sp^2 -конфигурацию [10].

Пирамидальная инверсия атома азота вызывает инверсию цикла, в результате которой экваториальная и аксиальная позиции заместителей в цикле меняются местами. Величина энергетического барьера пирамидальной инверсии E_a зависит от углового напряжения цикла при регидризации атома N в переходном состоянии инверсии: в пиперидинах она ниже, чем в пирролидинах, в азиридинах достигает максимального значения. Например, в 1H спектре пиперидина динамический эффект от замедления пирамидальной инверсии азота наблюдается только при температурах ниже минус 10 °C [11].

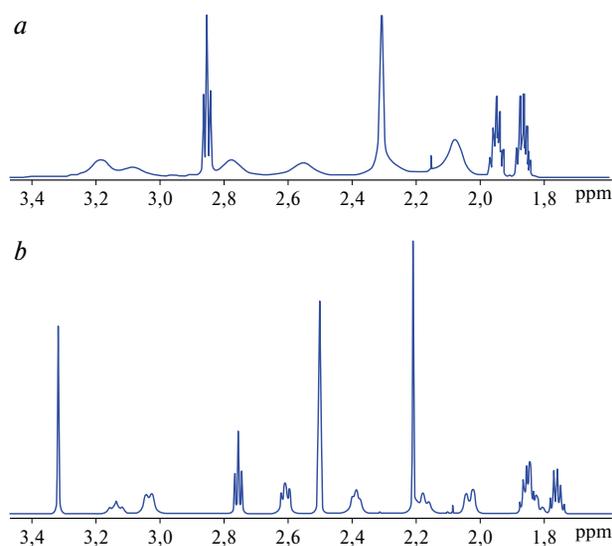


Рис. 2. Область спектров 1H рисперидона, содержащая сигналы N-этилпиперидинового фрагмента ($T = 27\text{ }^\circ\text{C}$): (a) $CDCl_3$; (b) $DMSO-d_6$

Fig. 2. 1H NMR spectral region of risperidone containing N-ethylpiperidine fragment signals ($T = 27\text{ }^\circ\text{C}$): (a) $CDCl_3$; (b) $DMSO-d_6$

² Там же.

Объемные или электроотрицательные заместители при атоме азота и внутримолекулярные взаимодействия повышают барьеры пирамидальной инверсии азота [10, 12, 13]. Примером соединения, в молекуле которого при комнатной температуре затруднены аксиально-экваториальные превращения пиперидинового цикла, является рисперидон. Рисперидон представляет собой атипичное антипсихотическое средство нового поколения, обладающее мощной дофаминергической и серотонинергической антагонистической активностью [14]. Спектральные данные 1H и ^{13}C рисперидона и продуктов его деградации представлены в работе [15]. Пиперидиновый цикл в молекуле рисперидона при комнатной температуре может существовать в виде конформеров в форме кресла с аксиальным или экваториальным положением заместителей в цикле. Сравнение 1H спектров рисперидона, зарегистрированных в $CDCl_3$ и $DMSO-d_6$ (рис. 2), свидетельствует о разной скорости инверсии пиперидинового цикла в этих растворителях.

В $CDCl_3$ пирамидальная инверсия атома азота затруднена: сигналы N-этилпиперидинового фрагмента малоинтенсивны и имеют форму значительно уширенных синглетов (область промежуточного обмена, рис. 2a).

Можно предположить, что повышение барьера инверсии пиперидинового цикла в $CDCl_3$ происходит из-за реализации специфической внутримолекулярной водородной связи C—H...O с участием карбонильной группы и атома H в положении 2 пиперидинового цикла. Данный тип взаимодействия описан в работе [16]. Это предположение хорошо согласуется с неэквивалентностью энантиотропных аксиальных протонов пиперидинового цикла в положениях 2 и 6 ($\delta = 2,29$ и $3,18$ ppm соответственно). В $DMSO-d_6$ СН-группы пиперидинового цикла участвуют в образовании межмолекулярных водородных связей C—H...O с молекулами растворителя, что существенно снижает эффективность внутримолекулярного взаимодействия (химические сдвиги энантиотропных протонов пиперидинового цикла становятся идентичными). В результате барьер инверсии атома азота снижается и пирамидальная инверсия переходит из области промежуточного в область быстрого обмена: сигналы N-этилпиперидинового фрагмента сужаются и приобретают форму соответствующих мультиплетов (рис. 2b). Аналогичная картина наблюдается в спектре ^{13}C (рис. 3): малоинтенсивные уширенные сигналы углеродных ядер N-этилпиперидинового фрагмента в $CDCl_3$ и узкие интенсивные сигналы в $DMSO-d_6$.

Предположение об участии карбонильной группы молекулы рисперидона в водородном связывании с молекулами растворителя хорошо согласуется

с результатами исследования рисперидона методами ИК- и Рамановской спектроскопии [17].

Другим примером соединения со спектральным проявлением инверсии конфигурации гетероатома является пророксан. Пророксан — российский препарат, относящийся к α -адреноблокаторам центрального действия, который применяется для нормализации сердечно-сосудистой деятельности, артериального давления и в наркологии [18]. В пророксане инверсия конфигурации атома азота пирролидинового цикла замедлена по сравнению с инверсией пиримидинового кольца рисперидона из-за увеличения углового напряжения. Так, в спектре ^{13}C пророксана, зарегистрированного в CDCl_3 (рис. 4а), наблюдается двойной набор сигналов N-этилпирролидинового фрагмента (область медленного, а не промежуточного, как в рисперидоне, конформационного обмена). Замена растворителя на ДМСО не снижает барьер пирамидальной инверсии атома азота (по-прежнему двойной набор сигналов, рис. 4б).

Следует отметить, что на замедление пирамидальной инверсии атома N в молекуле пророксана дополнительное влияние оказывает конформационно-стабилизирующая внутримолекулярная водородная связь N—H...O с замыканием в шестичленный цикл с участием протонированного атома N и карбонильной группы. Такие внутримолекулярные водородные связи имеют преимущество перед межмолекулярными водородными связями [19, 20], поэтому смена растворителя не оказывает существенного влияния на скорость инверсии атома N в пророксане.

Следующий пример зависимости скорости инверсии конфигурации атома азота от перестройки системы водородных связей под действием растворителя — клопидогрела гидросульфат. Это соединение используется для профилактики ишемического инсульта [21]. Методом порошковой рентгеновской дифракции установлено, что в кристалле независимо от полиморфной модификации клопидогрела гидросульфата два независимых органических катиона и два независимых аниона объединены в изолированный кластер водородными связями N—H...O и O—H...O [22]. Участие протонированного атома азота в образовании кластера существенно затрудняет инверсию его конфигурации. В спектре ^1H , зарегистрированном в ДМСО-d6 (рис. 5а), сигналы протонов всех заместителей при атоме N 7-дигидроотиено[3.2-с]пиридинового фрагмента имеют вид уширенных синглетов. В метаноле (рис. 5б) сигналы указанных протонов сужаются и приобретают форму соответствующих мультиплетов. Можно предположить, что при растворении в апротонном растворителе кластер сохраняется (есть внутрикластерная водородная связь, повышающая барьер пирамидальной

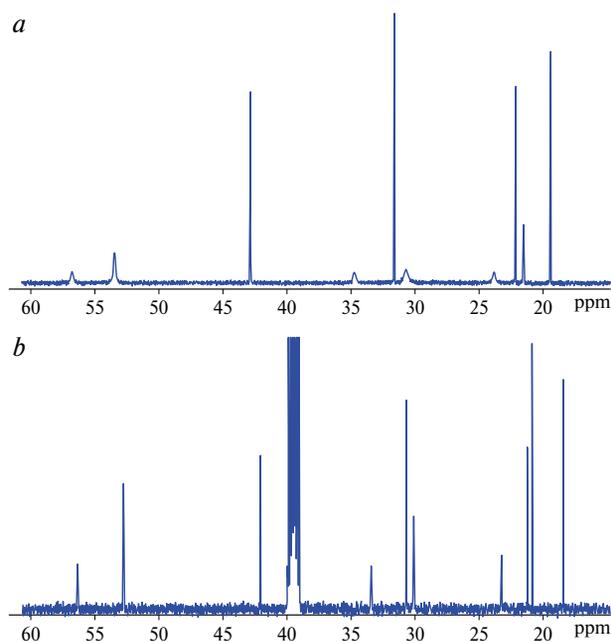


Рис. 3. Область спектров ^{13}C рисперидона, содержащая сигналы N-этилпирролидинового фрагмента ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) CDCl_3 ; (b) ДМСО-d6

Fig. 3. ^{13}C NMR spectral region of risperidone containing N-ethylpiperidine fragment signals ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) CDCl_3 ; (b) DMSO-d6

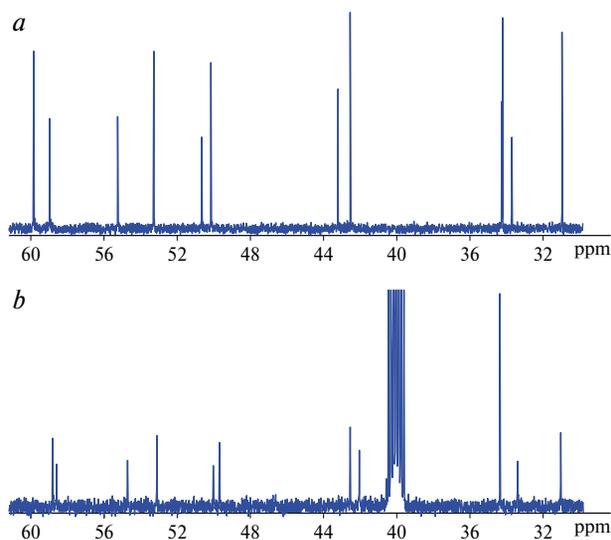


Рис. 4. Область ^{13}C спектров пророксана, содержащая сигналы N-этилпирролидинового фрагмента ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) CDCl_3 ; (b) ДМСО-d6

Fig. 4. ^{13}C NMR spectral region of proroxan containing N-ethylpyrrolidine fragment signals ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) CDCl_3 ; (b) DMSO-d6

ной инверсии N). При растворении в протонном растворителе происходит перестройка системы водородных связей (разрушается внутрикластерная водородная связь и образуется межмолекулярная водородная связь с участием растворителя). Как следствие, увеличивается скорость пирамидальной инверсии атома азота.

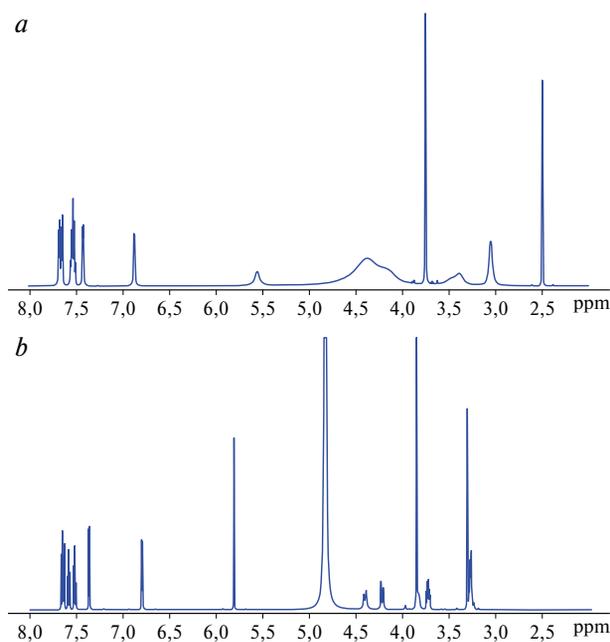


Рис. 5. Спектры ^1H клопидогрела гидросульфата ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) ДМСО- d_6 ; (b) CD_3OD

Fig. 5. ^1H NMR spectra of clopidogrel hydrogen sulfate ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) DMSO- d_6 ; (b) CD_3OD

Замедление скорости вращения вокруг одинарной связи

Этот эффект при комнатной температуре наблюдают, когда заместители при одинарной связи участвуют в сопряжении друг с другом, превращающем связь в частично двойную (полуторную)³. Например, в молекулах соединений, содержащих амидную группу, вследствие сопряжения между неподеленной электронной парой атома азота и кратной связью $\text{C}=\text{O}$ затруднено вращение вокруг амидной связи $\text{C}-\text{N}$. Величина энергетического барьера вращения вокруг полуторной связи зависит от температуры, растворителя и природы заместителя [23–31]. При комнатной температуре переход между Z- и E-конформациями относительно амидной связи относится к области медленного обмена, следствием чего является увеличение числа сигналов в ЯМР-спектре. Инверсия амидного атома азота, напротив, характеризуется очень низким энергетическим барьером [32], поэтому она не проявляется в ЯМР-спектрах. Так как ядра структурных фрагментов молекул, содержащих амидную связь, характеризуются различными значениями Δ_{AB} , то повышение температуры (соответственно, увеличение скорости конформационных переходов) не ведет к одинаковому изменению формы и положения их сигналов. Проиллюстрируем влияние заторможенного вращения вокруг амидной связи на вид ЯМР-спектров на примере валсартана. Валсартан представляет собой антагонист рецептора ангиотензина II и применяется при лечении гипертонической болезни, застойной

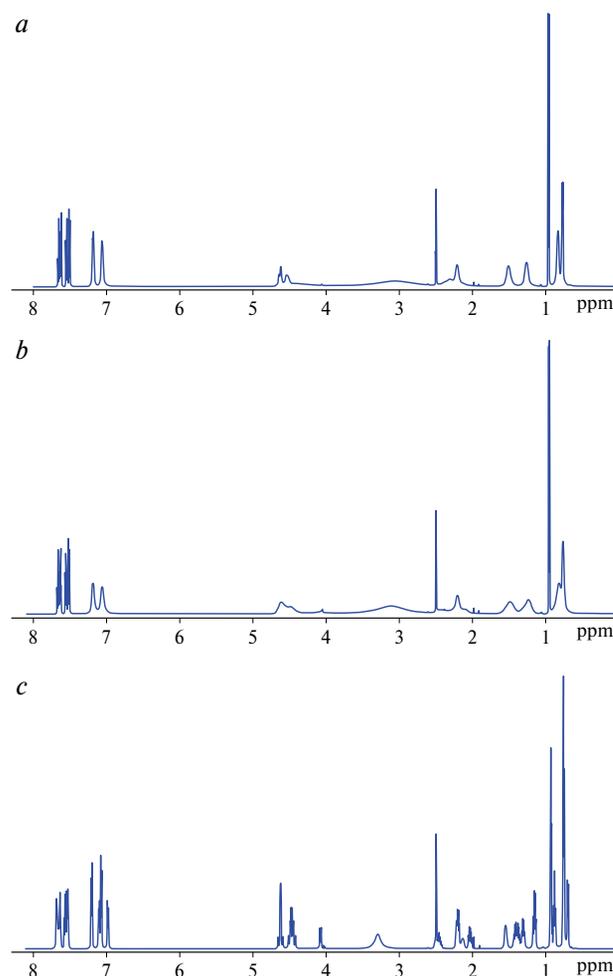


Рис. 6. Спектры ^1H валсартана в ДМСО- d_6 : (a) 27°C , (b) 80°C ; (c) 95°C

Fig. 6. ^1H NMR spectra of valsartan in DMSO- d_6 : (a) 27°C , (b) 80°C ; (c) 95°C

сердечной недостаточности, повышает выживаемость больных с острым инфарктом миокарда [33]. В спектре ^1H валсартана (ДМСО- d_6 , $T = 27^\circ\text{C}$) присутствуют Z- и E-конформеры в соотношении 60/40 (рис. 6a). При нагревании до 80°C их сигналы сливаются, при этом сигналы ароматических протонов 2-тетразол-фенильного фрагмента сохраняют свою мультиплетность, сигналы ароматических протонов бензильного фрагмента приобретают форму уширенных синглетов, а сигналы алифатических протонов уширяются настолько, что их становится сложно интерпретировать (рис. 6b). При температуре 95°C (рис. 6c) сигналы сужаются и проявляется тонкая структура спектра (переход из области промежуточного обмена в область быстрого обмена). В спектре ^{13}C (рис. 7) при нагревании в диапазоне $27-95^\circ\text{C}$ двойной набор сигналов также сливается в один, при этом максимально теряют свою интенсивность (практически совпадают с базовой линией) сигналы углеродных ядер — заместителей при атоме

³ Там же.

N амидной связи. Очевидно, для этих ядер характерно максимальное значение Δ_{AB} , и они переходят из области медленного обмена в область промежуточного, а не быстрого обмена.

Необходимо дальнейшее повышение температуры, чтобы все углеродные ядра молекулы валсартана перешли в область быстрого обмена. Следует отметить, что максимальная температура ЯМР-эксперимента ограничена физико-химическими свойствами растворителя, анализируемого соединения и возможностями прибора.

На интенсивность сигналов Z- и E-конформеров валсартана оказывает влияние полярность растворителя. Известно, что по мере повышения диэлектрической проницаемости растворителя возрастает относительная концентрация конформера с большим дипольным моментом [34]. Методом ROESY установлено, что в растворах валсартана в различных растворителях преобладает Z-конформер, при этом относительная концентрация E-конформера увеличивается в ряду $CDCl_3 < CD_3OD < (CD_3)_2SO$ (табл. 1). Экспериментальные данные по заселенности конформаций хорошо согласуются с данными расчета теплот образования (ΔH) и дипольных моментов (μ) Z- и E-конформеров: $\Delta H = -24,61$ (Z) и $-22,58$ (E) ккал/моль; $\mu = 4,73$ (Z) и $6,03$ Д (E). Как и ожидалось, с увеличением полярности растворителя увеличивается доля более полярного E-конформера.

Влияние растворителя на изменение конформационных переходов в молекуле валсартана изучено в работе [35]. Следует подчеркнуть, что наличие двух конформеров в растворах авторы, основываясь на квантово-химических расчетах, объясняли не заторможенным вращением вокруг полуторной амидной связи, а образованием различных внутримолекулярных водородных связей, стабилизирующих каждый из конформеров. В одном конформере это внутримолекулярная связь с участием тетразольного фрагмента и карбоксильной группы с замыканием в семичленный цикл, в другом — внутримолекулярная связь с участием карбонильной и карбоксильной

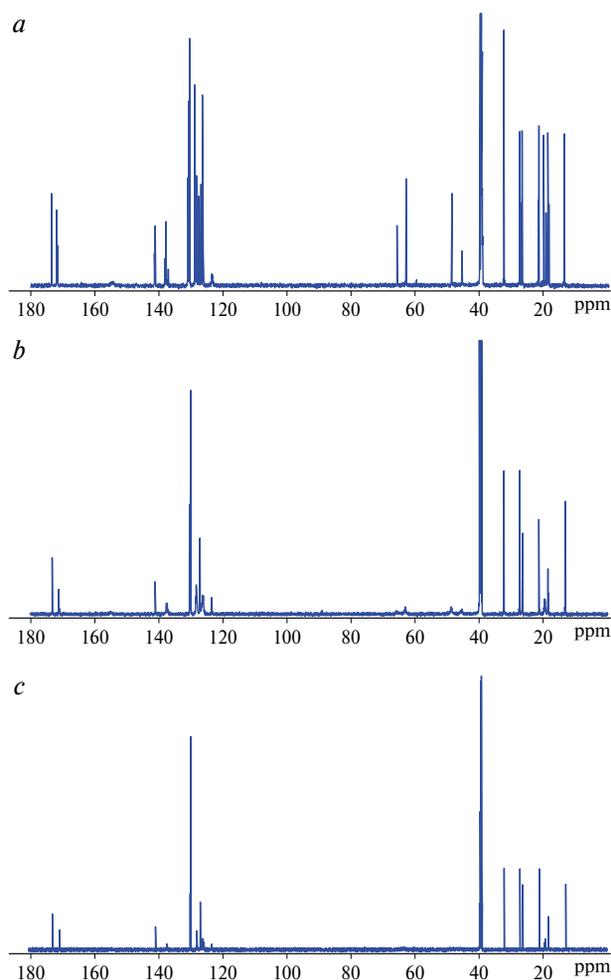


Рис. 7. Спектры ^{13}C валсартана в ДМСО-d6: (a) 27 °C; (b) 80 °C; (c) 95 °C

Fig. 7. ^{13}C NMR spectra of valsartan in DMSO-d6: (a) 27 °C; (b) 80 °C; (c) 95 °C

групп с замыканием в семичленный цикл. Вывод, что внутримолекулярные водородные связи с замыканием в семичленный цикл стабилизируют различные конформации молекулы валсартана в растворе, вызывает у нас сомнение. Такие связи, в отличие от внутримолекулярных водородных связей с замыканием

Таблица 1. Соотношение Z- и E-конформеров соединений с амидной связью в различных растворителях

Table 1. The ratios of Z- and E-conformers of compounds with an amide bond in various solvents

Растворитель Solvent	Диэлектрическая проницаемость, ϵ^* Permittivity, ϵ^*	Соотношение конформеров Z/E, % Z/E ratio, %	
		валсартан valsartan	эналаприла малеат enalapril maleate
$CDCl_3$	4,81	80/20	72/27
CD_3OD	32,6	62/38	60/40
$(CD_3)_2SO$	48,9	60/40	79/21
D_2O	78,5	Плохо растворим Low solubility	65/35

* Значения ϵ приведены для недеутерированных растворителей [34].

* ϵ values are given for non-deuterated solvents [34].

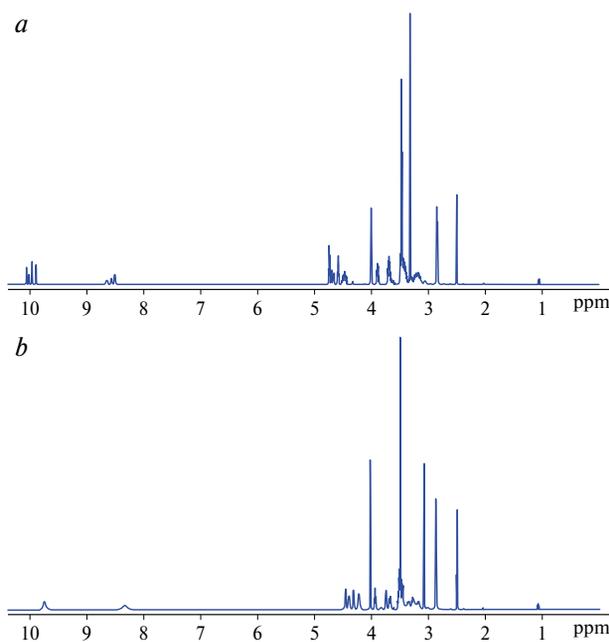


Рис. 8. Спектры ^1H йопромид в ДМСО- d_6 : (a) 27 °C; (b) 80 °C
Fig. 8. ^1H NMR spectra of iopromide in DMSO- d_6 : (a) 27 °C; (b) 80 °C

в шестичленный цикл, не обладают преимуществом перед межмолекулярными водородными связями [19, 20]. Однако заторможенность конформационных переходов в молекуле валсартана сохраняется не только при действии растворителя, но и при комплексообразовании с β -циклодекстрином [33]. Наш вывод о том, что присутствующие в растворах различных растворителей конформеры являются ротамерами вокруг амидной связи, подтверждается данными спектров ROESY.

При увеличении числа амидных групп в молекуле число наблюдаемых сигналов в ЯМР-спектрах увеличивается. В качестве примера соединения с несколькими амидными группами рассмотрим йопромид. Йопромид широко используется как контрастное вещество в компьютерной томографии [36–38], а также применяется для определения внутриклеточного pH при диагностике раковых опухолей методом магнитно-резонансной томографии с химическим насыщением [39]. Структуру йопромид изучали методами ЯМР-спектроскопии [37, 38]. Авторы [40], исследуя возможные пути деградации йопромид в воде и почвах, обнаружили повышенную мультиплетность амидных сигналов в спектре ^1H , которую объяснили одновременным существованием в растворе нескольких ротамеров вокруг амидной связи. С повышением температуры до 120 °C мультиплетное расщепление амидных сигналов исчезало. Действительно, в ^1H спектре йопромид, зарегистрированном при температуре 27 °C (рис. 8a), наблюдается 4 сигнала амидного протона 2-метоксиацетиламинового фрагмента ($\delta = 9,9\text{--}10,1$ ppm)

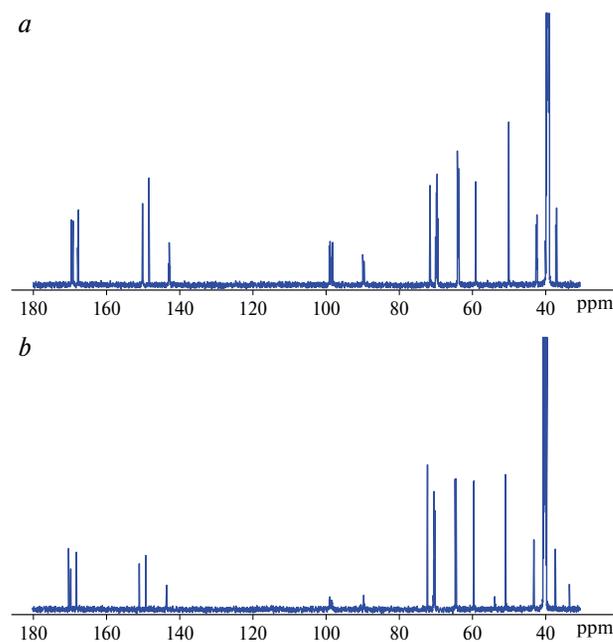


Рис. 9. Спектры ^{13}C йопромид в ДМСО- d_6 : (a) 27 °C; (b) 80 °C
Fig. 9. ^{13}C NMR spectra of iopromide in DMSO- d_6 : (a) 27 °C; (b) 80 °C

и 3 сигнала амидного протона 2,3-дигидроксипропиламидного фрагмента ($\delta = 8,5\text{--}8,7$ ppm). При повышении температуры до 80 °C сигналы протонов отдельных конформеров сливаются и достигается соответствие между числом сигналов и числом протонов (рис. 8b).

Сравнение ^{13}C спектров йопромид, полученных при 27 и 80 °C (рис. 9), позволяет выявить атомы, испытывающие наибольшее изменение химического окружения при вращениях вокруг амидных связей. Это ароматические углеродные ядра, находящиеся в *ortho*-положении к амидным заместителям (область 88–100 ppm). При повышении температуры до 80 °C интенсивность их сигналов резко падает (область промежуточного обмена).

Таким образом, в молекуле йопромид, как и в молекуле валсартана, вращение вокруг амидной связи затруднено настолько, что даже в широком интервале температур (27–80 °C) не удается достичь быстрого обмена для всех ядер молекулы. По данным литературы, переход ядер ^{13}C молекулы йопромид в область быстрого обмена происходит только при температуре 120 °C [40].

Примером соединения, в молекуле которого протекает одновременно несколько внутримолекулярных процессов, является эналаприла малеат. Эналаприла малеат и его аналоги относятся к препаратам, снижающим артериальное давление [41, 42]. В молекуле эналаприла малеата наряду с заторможенным вращением вокруг амидной связи присутствует инверсия конфигурации ациклического атома N. Как правило, барьер пирамидальной инверсии атома N существенно ниже барьера вращения

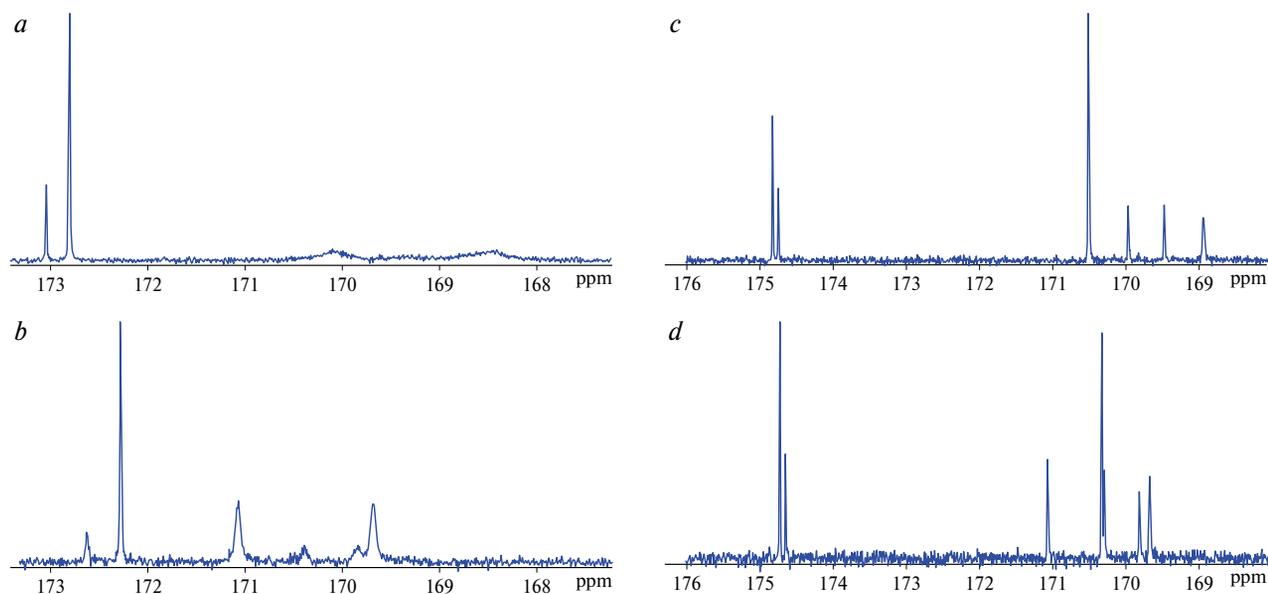


Рис. 10. Фрагменты ^{13}C спектров эналаприла малеата с сигналами карбоксильных и амидных групп, зарегистрированных в ДМСО- d_6 при: (a) 25 °С; (b) 80 °С, в CD_3OD при: (c) 25 °С; (d) 50 °С

Fig. 10. Fragments of ^{13}C NMR spectra of enalapril maleate with carboxyl and amide group signals recorded in DMSO- d_6 at: (a) 25 °С; (b) 80 °С, and in CD_3OD at: (c) 25 °С; (d) 50 °С

вокруг амидной связи⁴, поэтому в ЯМР-спектрах эналаприла малеата наблюдается динамический эффект только от заторможенного вращения: двойной набор сигналов от Z- и E-конформеров. Структурная интерпретация спектров ^1H и ^{13}C Z- и E-конформеров эналаприла малеата приведена в работе [41]. Следует отметить, что, в отличие от валсартана, соотношение Z- и E-конформеров протонированной молекулы эналаприла в различных растворителях не коррелирует с диэлектрической проницаемостью среды (табл. 1). Кроме того, в спектре ^{13}C эналаприла малеата (ДМСО- d_6 , T = 25 °С) в области гидроксильных и амидной групп наблюдается только двойной сигнал карбоксильной группы, максимально удаленной от инвертируемого гетероатома (заместитель при пирролидине, $\delta = 172,7\text{--}173,2$ ppm). Сигналы карбонильного углерода амидной ($\delta = 169,8\text{--}170,5$ ppm) и эфирной ($\delta = 168,2\text{--}169,0$ ppm) групп практически слились с базовой линией (рис. 10a). При повышении температуры до 80 °С наблюдается двойной набор сигналов всех карбонильных атомов углерода (рис. 10b). При замене апротонного растворителя на метанол или воду все сигналы в углеродном спектре имеют вид узких синглетов как при комнатной, так и при повышенной температуре (рис. 10c, d).

Эти экспериментальные данные также можно объяснить различной скоростью пирамидальной инверсии атома азота в зависимости от условий регистрации ЯМР-спектров. Можно предположить, что в апротонном растворителе реализуется внутримолекулярная водородная связь, замыкающая инвертируемый протонированный

атом N и C=O амидной группы в пятичленный цикл. Взаимодействие с участием амидной группы затрудняет как пирамидальную инверсию азота (скорость инверсии переходит из области быстрого обмена в область промежуточного обмена), так и вращение вокруг амидной связи (значительное различие в заселенности конформаций). В протонном растворителе карбонильные группы участвуют в образовании межмолекулярных водородных связей типа C=O...H-O, что существенно снижает эффективность внутримолекулярного взаимодействия. Как следствие, возрастает скорость конформационных переходов: проявляются сигналы всех карбонильных групп и уменьшается различие в заселенности Z- и E-конформаций. Аналогичный эффект вызывает повышение температуры.

Внутримолекулярные перегруппировки

Метод ЯМР активно используют при изучении различного рода внутримолекулярных перегруппировок [43–46]. Наиболее часто встречающийся в экспертной практике вариант внутримолекулярной перегруппировки — прототропная таутомерия. Например, в молекулах бусерелина, гозерелина и трипторелина присутствует прототропная таутомерия в 4-замещенном имидазоле гистидинового фрагмента. Эти соединения являются синтетическими аналогами гонадолиберина и активно применяются при лечении злокачественных новообразований в области репродуктивной системы и гинекологических заболеваний, связанных с нарушением эндокринной регуляции [47–51].

⁴ Гюнтер Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР. М.: Мир; 1984.

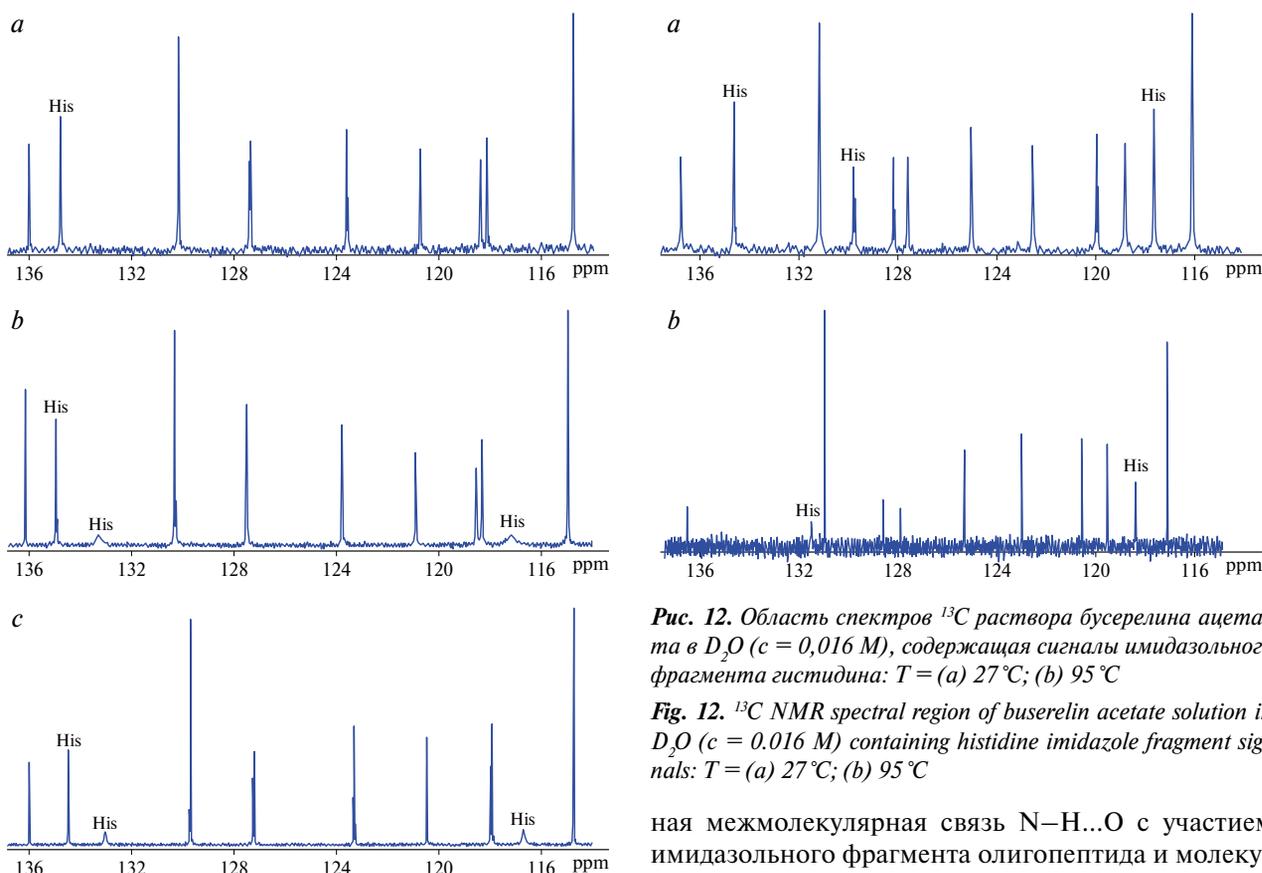


Рис. 11. Область спектров ^{13}C раствора бусерелина ацетата в ДМСО- d_6 , содержащая сигналы имидазольного фрагмента гистидина: (а) $c = 0,016\text{ M}$, $T = 27^\circ\text{C}$; (б) $c = 0,16\text{ M}$, $T = 27^\circ\text{C}$; (с) $c = 0,16\text{ M}$, $T = 85^\circ\text{C}$

Fig. 11. ^{13}C NMR spectral region of busserelin acetate solution in DMSO- d_6 containing signals of the histidine imidazole fragment: (a) $c = 0.016\text{ M}$, $T = 27^\circ\text{C}$; (b) $c = 0.16\text{ M}$, $T = 27^\circ\text{C}$; (c) $c = 0.16\text{ M}$, $T = 85^\circ\text{C}$

Характерной особенностью зарегистрированных в ДМСО- d_6 спектров ^{13}C этих олигопептидов является отсутствие сигналов углеродных ядер в позициях 4 и 5 имидазольного цикла, в то время как в спектрах водных растворов эти сигналы наблюдаются [52–54] (рис. 11–14). На скорость прототропной таутомерии в имидазолах влияют различные факторы: электронная делокализация, внутримолекулярные невалентные взаимодействия, сольватация, ионизация и т.д. [55].

Авторами⁵ доказано, что прототропная таутомерия в имидазолах (включая 4-замещенные) является межмолекулярным процессом, скорость которого зависит от степени межмолекулярной агрегации за счет водородной связи N–H...N. Уменьшение вклада межмолекулярного протонного обмена N–H...N в интегральную скорость миграции протона увеличивает барьер активации таутомерного процесса. Можно предположить, что конкурент-

Рис. 12. Область спектров ^{13}C раствора бусерелина ацетата в D_2O ($c = 0,016\text{ M}$), содержащая сигналы имидазольного фрагмента гистидина: $T =$ (а) 27°C ; (б) 95°C

Fig. 12. ^{13}C NMR spectral region of busserelin acetate solution in D_2O ($c = 0.016\text{ M}$) containing histidine imidazole fragment signals: $T =$ (a) 27°C ; (b) 95°C

ная межмолекулярная связь N–H...O с участием имидазольного фрагмента олигопептида и молекулы растворителя в случае ДМСО- d_6 сильнее, чем в случае D_2O , поэтому скорость прототропной таутомерии в ДМСО медленнее, чем в воде. Следует отметить, что скорость прототропной таутомерии в имидазолах существенно зависит от концентрации исследуемого образца. С ее увеличением возрастает степень межмолекулярной агрегации, что снижает барьер активации прототропной таутомерии. Так, следствием роста концентрации раствора бусерелина ацетата в ДМСО- d_6 с 0,016 до 0,16 М является появление в спектре ^{13}C уширенных сигналов имидазольного цикла $\delta = 117,17$ и $133,27\text{ ppm}$ (рис. 11б).

В случае 0,016 М раствора бусерелина ацетата в D_2O , напротив, повышение температуры замедляет скорость прототропного обмена (исчезновение сигнала ядра имидазольного цикла в позиции 4 с химическим сдвигом $\delta = 129,79\text{ м.д.}$ и уменьшение интенсивности и уширение сигнала ядра в позиции 2 ($\delta = 131,70\text{ ppm}$, рис. 12б).

Можно предположить, что при высокой концентрации степень агрегации молекул бусерелина настолько велика, что повышение температуры не оказывает на нее существенного влияния и мы наблюдаем ожидаемое увеличение скорости прототропного обмена. При разбавлении раствора в 10 раз степень агрегации снижается и повышение температуры уменьшает вклад межмолекулярного

⁵ Ларина Л.И. Спектроскопия ЯМР и строение замещенных азолов: автореф. дис. ... д-ра хим. наук. Иркутск; 2003.

Александровский В.В. Водородная связь в молекулярно-анизотропных системах: автореф. дис. ... д-ра хим. наук. Иваново; 2008.

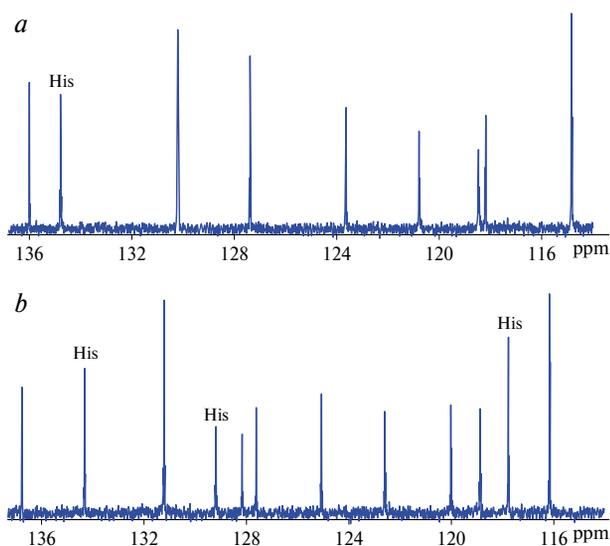


Рис. 13. Область спектров ^{13}C гозерелина ацетата, содержащая сигналы имидазольного фрагмента гистидина ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) ДМСО- d_6 ; (b) D_2O

Fig. 13. ^{13}C NMR spectral region of goserelin acetate containing signals of the histidine imidazole fragment ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) DMSO- d_6 ; (b) D_2O

протонного обмена N–H...N в интегральную скорость миграции протона до критического уровня — скорость прототропной таутомерии замедляется.

Следует подчеркнуть, что на скорость прототропной таутомерии в 4-замещенных имидазолах влияет внутримолекулярная водородная связь. Так, в спектре ^{13}C диастереоизомера бусерелина ацетата (5-*L*-Тур→5-*D*-Тур) сигналы углеродных ядер в позиции 4 и 5 имидазольного фрагмента отсутствуют независимо от выбранного растворителя [54]. Тот факт, что для [5-*D*-Тур]бусерелина ацетата замена ДМСО- d_6 на D_2O не ведет к ускорению протонного обмена, мы объясняли перестройкой системы внутримолекулярных невалентных взаимодействий в олигопептиде, вызванной изменением пространственной ориентации 5-Тур.

Быстрые прототропные превращения присущи и производным бензимидазола, например омепразолу. Омепразол представляет собой лекарственное средство, эффективно ингибирующее выделение соляной кислоты [56]. Структурная интерпретация ^1H спектра раствора омепразола в дейтерированном метаноле приведена в работе [57]. В ^1H спектре омепразола, зарегистрированного в ДМСО- d_6 , сигналы ароматических протонов бензимидазольного фрагмента имеют вид чрезвычайно уширенных синглетов (рис. 15a). При замене растворителя на CDCl_3 сигналы сужаются и приобретают вид соответствующих мультиплетов (рис. 15b).

Можно предположить, что образование межмолекулярной водородной связи N–H...O с участием растворителя тормозит прототропный процесс аналогично тому, как это происходит в олигопеп-

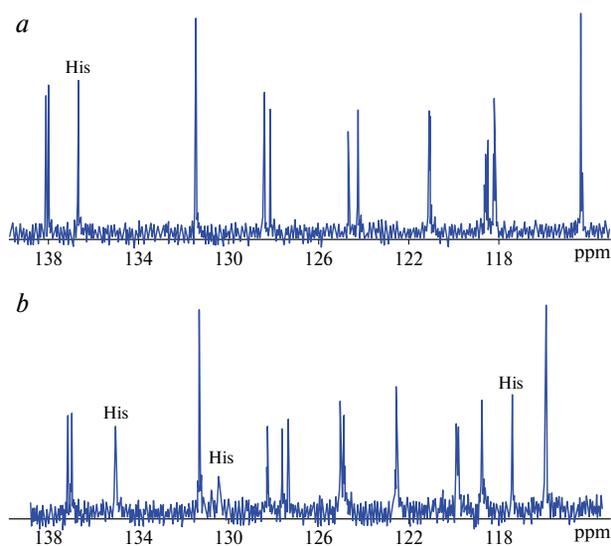


Рис. 14. Область спектров ^{13}C трипторелина ацетата, содержащая сигналы имидазольного фрагмента гистидина ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) ДМСО- d_6 ; (b) D_2O

Fig. 14. ^{13}C NMR spectral region of triptorelin acetate containing signals of the histidine imidazole fragment ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) DMSO- d_6 ; (b) D_2O

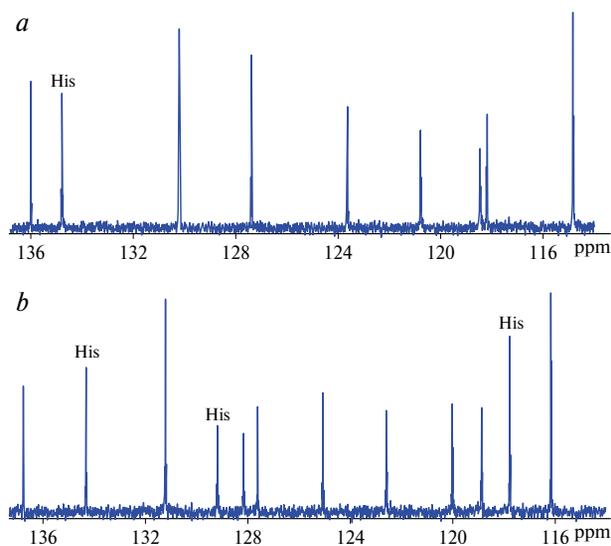


Рис. 15. Область спектров ^1H омепразола, содержащая сигналы бензимидазольного фрагмента ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) ДМСО- d_6 ; (b) CDCl_3

Fig. 15. ^1H NMR spectral region of omeprazole containing signals of the benzimidazole fragment ($T = 27^\circ\text{C}$): (a) DMSO- d_6 ; (b) CDCl_3

тидах. Следует отметить, что в молекуле омепразола наряду с прототропной таутомерией также наблюдается заторможенное вращение бензимидазольного фрагмента относительно экзоциклической связи C–S. В результате медленной скорости Z–E конформационного перехода в ЯМР-спектрах наблюдается двойной набор сигналов. Преобладает E-конформация, стабилизированная внутримолекулярной водородной связью N–H...O

с замыканием в пятичленный цикл. Соотношение Z/E конформеров составляет 1:9.

Таким образом, нередки случаи, когда в органической молекуле протекает одновременно несколько динамических процессов, каждый из которых вносит свой вклад в изменение ЯМР-спектра и характеризуется своей величиной Δ_{AB} и, следовательно, своим диапазоном скоростей обмена, оказывающим влияние на форму и интенсивность сигналов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Замедление скорости внутримолекулярных динамических процессов вызывает либо увеличение числа сигналов ЯМР-спектра по сравнению с числом структурных фрагментов, способных продуцировать сигнал, либо уширение сигналов с потерей их мультиплетности, либо полное исчезновение некоторых сигналов. Использование традиционных приемов увеличения скорости динамических процессов (смена растворителя, увеличение температуры в диапазоне, обусловленном физико-химическими свойствами растворителя) не всегда позволяет устранить эти отрицательные явления. Ограничения в применении способов нивелирования спектральных проявлений динамических процессов связаны с сильными внутримолекулярными невалентными взаимодействиями, которые препятствуют переводу скорости динамического процесса в область быстрого обмена. Проявление динамических процессов, приводящее к искажению ожидаемого вида

спектра, необходимо учитывать экспертам и производителям при подтверждении подлинности ЛС методом ЯМР-спектроскопии.

Вклад авторов. *Н. Е. Кузьмина* — идея, планирование исследования, анализ литературы, регистрация ЯМР-спектров, интерпретация результатов исследования, написание статьи; *С. В. Моисеев* — анализ литературы, пробоподготовка, регистрация ЯМР-спектров, интерпретация результатов исследования, редактирование текста; *А. И. Лутцева* — ответственность за все аспекты работы, решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи.

Authors' contributions. *Nataliya E. Kuz'mina*—idea, research planning, literature review, registration of NMR spectra, interpretation of research findings, writing the text; *Sergei V. Moiseev*—literature review, sample preparation, registration of NMR spectra, interpretation of research findings, editing the text; *Anna I. Lutseva*—overall responsibility for all aspects of the research, handling of questions related to the accuracy and integrity of all parts of the paper.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gottlieb HE, Kotlyar V, Nudelman A. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *J Org Chem.* 1997;62(21):7512–5. <https://doi.org/10.1021/jo971176v>
- Haushalter KA, Lau J, Roberts JD. An NMR investigation of the effect of hydrogen bonding on the rates of rotation about the C–N bonds in urea and thiourea. *J Am Chem Soc.* 1996;118(37):8891–6. <https://doi.org/10.1021/ja961380k>
- Krishnan VV, Vazquez S, Maitra K, Maitra S. Restricted amide rotation with steric hindrance induced multiple conformations. *Chem Phys Lett.* 2017;689:148–51. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2017.10.013>
- Waudby CA, Frenkiel T, Christodoulou J. Cross-peaks in simple 2D NMR experiments from chemical exchange of transverse magnetization. *ChemRxiv. Preprint.* 2019. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.7823828.v1>
- Movahedifar F, Modarresi-Alam AR, Kleinpeter E, Schilde U. Dynamic ¹H-NMR study of unusually high barrier to rotation about the partial C–N double bond in N,N-dimethyl carbamoyl 5-aryloxytetrazoles. *J Mol Struct.* 2017;1133:244–52. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.12.010>
- Conte M, Hippler M. Dynamic NMR and quantum-chemical study of the stereochemistry and stability of the chiral MoO₃(acac)₂ complex in solution. *J Phys Chem A.* 2016;120(34):6677–87. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.6b03563>
- Каратаева ФХ, Клочков ВВ. Изучение методом спектроскопии ЯМР и теоретическое моделирование структуры и внутримолекулярных процессов в некоторых N-диметокси(тио)фосфорил(тио)ацетамидах. *Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки.* 2009;151(4):50–7. [Karataeva FKh, Klochkov VV. Experimental (NMR spectroscopy) and semiempirical calculation of the structure and intramolecular processes in some N-dimethoxy(thio)phosphoryl(thio)acetedamides. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki.* 2009;151(4):50–7. (In Russ.)]
- zanskogo universiteta. *Seriya Estestvennye nauki = Scientific Notes of Kazan University. Natural Sciences.* 2009;151(4):50–7 (In Russ.)]
- Kolehmainen E. Novel application of dynamic NMR in organic chemistry. *Annu Rep NMR Spectro.* 2003;49:1–41. [https://doi.org/10.1016/S0066-4103\(03\)49001-7](https://doi.org/10.1016/S0066-4103(03)49001-7)
- Зусман ЛД. Динамические эффекты растворителя в реакциях переноса электрона. *Успехи химии.* 1992;61(1):29–47. [Zusman LD. The dynamic effects of the solvent in electron transfer reactions. *Russ Chem Rev.* 1992;61(1):15–24 (In Russ.)]
- Montgomery CD. Factors affecting energy barriers for pyramidal inversion in amines and phosphines: a computational chemistry lab exercise. *J Chem Educ.* 2013;90(5):661–4. <https://doi.org/10.1021/ed300527t>
- Anet FAL, Yavari I. Nitrogen inversion in piperidine. *J Am Chem Soc.* 1977;99(8):2794–6. <https://doi.org/10.1021/ja00450a064>
- Lehn JM, Wagner J. NMR studies of rate processes and conformations—XVIII: Hindered nitrogen inversion in 5-membered heterocyclic amines. *Tetrahedron.* 1970;26(17):4227–40. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)93064-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)93064-9)
- Чертыхина ЮА, Лебедь ОС, Куцки-Савченко НВ, Либ АС, Цыганков АВ, Просьяник АВ. Влияние электроотрицательности заместителей и внутримолекулярных взаимодействий на барьеры инверсии производных аммиака. *Вопросы химии и химической технологии.* 2018;(2):51–9. [Chertikhina YuA, Lebed OS, Kutsik-Savchenko NV, Lib AS, Tsygankov AV, Prosyani AV. The effect of substituents electronegativity and intramolecular interactions on the inversion barriers of ammonia derivatives. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii = Issues of Chemistry and Chemical Technology.* 2018;(2):51–9 (In Russ.)] <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2019-123-2-55-63>
- Jacobsen FM. Risperidone in the treatment of affective illness and obsessive-compulsive disorder. *J Clin Psychiatry.* 1995;56(9):423–9. PMID: 7545159

15. Bharathi Ch, Chary DK, Kumar MS, Shankar R, Handa VK, Dandala R, Naidu A. Identification, isolation and characterization of potential degradation product in risperidone tablets. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;46(1):165–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.08.008>
16. Lobato-Garcia CE, Guadarrama P, Lozada C, Enríquez RG, Gnecco D, Reynolds WF. Study of minimum energy conformers of N-substituted derivatives of piperidine and pyrrolidine. Evidence of weak H-bonding by theoretical correlation with experimental NMR data. *J Mol Struct.* 2006;786(1):53–64. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.10.024>
17. Mealey D, Zeglinski J, Khamar D, Rasmuson AC. Influence of solvent on crystal nucleation of risperidone. *Faraday Discuss.* 2015;179:309–28. <https://doi.org/10.1039/c4fd00223g>
18. Быков ЮВ, Бенкер РА. Пророксан в наркологии и психиатрии (часть 1). *Психиатрия и психофармакотерапия.* 2017;19(2):44–51. [Vykov YuV, Bekker RA. Proroxane: a drug with broad efficacy in drug addiction medicine and psychiatry (part 1). *Psikhiatriya i psikhofarmakoterapiya = Psychiatry and Psychopharmacotherapy.* 2017;19(2):44–51 (In Russ.)]
19. Стив ДЖВ, Этвуд ДЖЛ. *Супрамолекулярная химия.* Т. 2. М.: Академкнига; 2007. [Steed JW, Atwood JL. *Supramolecular chemistry.* V. 2. Moscow: Akademkniga; 2007 (In Russ.)]
20. Etter MC. Encoding and decoding hydrogen bond patterns of organic compounds. *Acc Chem Res.* 1990;23(4):120–6. <https://doi.org/10.1021/ar00172a005>
21. Shaban A, Monlezun DJ, Rincon N, Tiu J, Valmoría M, Martin-Schild S. Safety and efficacy of acute clopidogrel load in patients with moderate and severe ischemic strokes. *Stroke Res Treat.* 2016;2016:8915764. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8915764>
22. Chernyshev VV, Pirogov SV, Shishkina IN, Velikodny YuA. Monoclinic form I of clopidogrel hydrogen sulfate from powder diffraction data. *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online.* 2010;66(8):o2101–o2102. <https://doi.org/10.1107/S1600536810028783>
23. Modarresi-Alam AR, Najafi P, Rostamizadeh M, Keykha H, Bijanzadeh H-R, Kleinpeter E. Dynamic ^1H NMR study of the barrier to rotation about the C–N bond in primary carbamates and its solvent dependence. *J Org Chem.* 2007;72(6):2208–11. <https://doi.org/10.1021/jo061301f>
24. Bazargani M, Tafazzoli M. Dynamic NMR and theoretical study of hindered internal rotation about the C–N bond in 4-(phenyl) acetyl morpholine. *APCBBE Procedia.* 2013;7:145–50. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2013.08.025>
25. Zhao P, Cao S, Guo Y, Gao P, Wang Y, Peng M, Zhao Y. Investigation of the C–N bond rotation of spirophosphorane carbamates by dynamic NMR and DFT calculation. *Tetrahedron.* 2015;71(46):8738–45. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.09.052>
26. Kozlecki T, Tolstoy PM, Kwocz A, Vovk MA, Kochel A, Polowczyk I, et al. Conformational state of β -hydroxynaphthylamides: Barriers for the rotation of the amide group around C–N bond and dynamics of the morpholine ring. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;149:254–62. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.04.052>
27. Sippl SP, White PB, Fry CG, Volk SE, Ye L, Schenck HL. Kinetic and thermodynamic characterization of C–N bond rotation by N-methylacetohydroxamic acid in aqueous media. *Magn Reson Chem.* 2015;54(1):46–50. <https://doi.org/10.1002/mrc.4318>
28. Krishnan VV, Vazquez S, Maitra K, Maitra S. Restricted amide rotation with steric hindrance induced multiple conformations. *Chem Phys Lett.* 2017;689:148–51. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2017.10.013>
29. Gamov GA, Aleksandriiskii VV, Sharnin VA. Inhibited rotation of amide group around C–N bond of nicotinamide in different solvents by ^1H NMR data. *J Mol Liq.* 2017;231:238–41. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.01.078>
30. Movahedifar F, Modarresi-Alam AR, Kleinpeter E, Schilde U. Dynamic ^1H -NMR study of unusually high barrier to rotation about the partial C–N double bond in N,N-dimethyl carbamoyl 5-aryloxytetrazoles. *J Mol Struct.* 2017;1133:244–52. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.12.010>
31. Marx D, Schnakenburg G, Grimme S, Müller CE. Structural and conformational studies on carboxamides of 5,6-diaminouracils—precursors of biologically active xanthine derivatives. *Molecules.* 2019;24(11):E2168. <https://doi.org/10.3390/molecules24112168>
32. Alkorta I, Catiuela C, Elguero J, Gil AM, Jimenez AI. A theoretical study of the influence of nitrogen angular constants on the properties of amides: rotation/inversion barriers and hydrogen bond accepting abilities of N-formylaziridine and -aziridine. *New J Chem.* 2005;29(11):1450–2. <https://doi.org/10.1039/b509368f>
33. Jensen CE, dos Santos RA, Denadi AM, Santos CF, Braga AN, Sinsterra RD. Pharmaceutical composition of valsartan: beta-cyclodextrin: physico-chemical characterization and anti-hypertensive evaluation. *Molecules.* 2010;15(6):4067–84. <https://doi.org/10.3390/molecules15064067>
34. Райхардт К. *Растворители и эффекты среды в органической химии.* М.: Мир; 1991. [Reichardt C. *Solvents and solvent effect in organic chemistry.* Moscow: Mir; 1991 (In Russ.)]
35. Chashmniyam S, Tafazzoli M. NMR investigation and theoretical calculations of the solvent effect on the conformation of valsartan. *J Mol Struct.* 2017;1148:73–80. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.07.031>
36. Speck U, Blaszkiewicz P, Seidelmann D, Klieger E. Novel triiodinated isophthalic acid diamides as nonionic X-ray contrast media. Patent of United States No. US4364921A; 1982.
37. Hwang KS, Chung SM, Kim ChK, Kim BK, Lee YJ, Kim BCh, Joe GH. Novel process for preparation of iopromide. World Intellectual Property Organization. Patent No. WO2009/134030A1; 2009.
38. van de Bruck M, Dölle A, Michl G, Radüchel B. Reorientational dynamics, hydrogen bonding and hydrophilicity of X-ray contrast agents in solution. *Magn Reson Chem.* 2001;39:S135–41. <https://doi.org/10.1002/mrc.936>
39. Moon BF, Jones KM, Chen LQ, Liu P, Randtke EA, Howison CM, Pangel MD. A comparison of iopromide and iopamidol, two acidoCEST MRI contrast media that measure tumor extracellular pH. *Contrast Media Mol Imaging.* 2015;10(6):446–55. <https://doi.org/10.1002/cmim.1647>
40. Schulz M, Löffler D, Wagner M, Ternes TA. Transformation of the X-ray contrast medium iopromide in soil and biological wastewater treatment. *Environ Sci Technol.* 2008;42(19):7207–17. <https://doi.org/10.1021/es800789r>
41. Sakamoto Y, Sakamoto Y, Oonishi I, Ohmoto T. Conformational analysis of enalapril (MK-421) in solution by ^1H and ^{13}C NMR. *J Mol Struct.* 1990;238:325–34. [https://doi.org/10.1016/0022-2860\(90\)85024-D](https://doi.org/10.1016/0022-2860(90)85024-D)
42. Ali SM, Maheshwari A, Asmat F, Koketsu M. Complexation of enalapril maleate with beta-cyclodextrin: NMR spectroscopic study in solution. *Quim Nova.* 2006;29(4):685–8. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422006000400011>
43. Claramunt RM, Lopez C, Santa Maria M, Sanz D, Elguero J. The use of NMR spectroscopy to study tautomerism. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2006;49(3–4):169–206.
44. Claramunt RM, Lopez C, Alkorta I, Elguero J, Yang R, Schulman S. The tautomerism of omeprazole in solution: a ^1H and ^{13}C NMR study. *Magn Reson Chem.* 2004;42(8):712–4. <https://doi.org/10.1002/mrc.1409>
45. L'Abbe G, Persoons M-A, Toppet S. Study of the prototropic tautomerism of 8-azatheophylline by ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy. *Magn Reson Chem.* 1987;25(4):362–4. <https://doi.org/10.1002/mrc.1260250418>
46. Larina LI, Milata V. ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy and tautomerism of nitrobenzotriazoles. *Magn Reson Chem.* 2009;47(2):142–8. <https://doi.org/10.1002/mrc.2366>
47. Wu S, Li Q, Zhu Y, Sun J, Li F, Lin H, et al. Role of goserelin in combination with endocrine therapy for the treatment of advanced breast cancer in premenopausal women positive for hormone receptor: a retrospective matched case-control study. *Cancer Biother Radiopharm.* 2013;28(10):697–702. <https://doi.org/10.1089/cbr.2012.1436>
48. Высоцкая ИВ, Максимов КВ. Адьювантная эндокринотерапия рака молочной железы у группы больных пременопаузального возраста. *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2007;(1–2):45–7. [Vysockaya IV, Maksimov KV. Adjuvant endocrine therapy for breast cancer in a group of premenopausal patients. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistema = Tumors of Female Reproductive System.* 2007;(1–2):45–7 (In Russ.)]
49. Chokhtanasiri W, Boonkasemsanti W, Sittisomwong T, Kunathikom S, Suksompong S, Udomsubpayakul U, Rojanasakul A.

- Long-acting triptorelin for the treatment of endometriosis. *Int. J. Gynaecol Obstet.* 1996;54(3):237–43. [https://doi.org/10.1016/0020-7292\(96\)02698-7](https://doi.org/10.1016/0020-7292(96)02698-7)
50. Venturini M, Guaitoli G, Omarini C, Moscetti L. Spotlight on triptorelin in the treatment of premenopausal women with early-stage breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2018;10:39–49. <https://doi.org/10.2147/bcct.s137508>
51. Mezö I, Lovas S, Palyi I, Vincze B, Kalnay A, Turi G, et al. Synthesis of gonadotropin-releasing hormone III analogs. Structure–antitumor activity relationship. *J Med Chem.* 1997;40(21):3353–8.
52. Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Крылов ВИ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Разработка методики подтверждения подлинности фармацевтической субстанции «Бусерелина ацетат» методом ЯМР-спектроскопии без использования фармакопейного стандартного образца. *Антибиотики и химиотерапия.* 2017;62(9–10):40–6. [Kuz'mina NE, Moiseev SV, Krylov VI, Yashkir VA, Merkulov VA. Development of a procedure for the identification of pharmaceutical substance «buserelin acetate» by NMR spectroscopy without using pharmacopoeia reference standard. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy.* 2017;62(9–10):40–6 (In Russ.)]
53. Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Крылов ВИ, Дерябин АС, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Валидация методики подтверждения подлинности фармацевтической субстанции «Бусерелина ацетат» методом ЯМР-спектроскопии. *Химико-фармацевтический журнал.* 2018;52(2):48–53. [Kuz'mina NE, Moiseev SV, Krylov VI, Deryabin AS, Yashkir VA, Merkulov VA. Validation of an NMR-spectroscopic method for authenticity confirmation of buserelin acetate pharmaceutical substance. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2018;52(2):159–65] <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1783-8>
54. Моисеев СВ, Кузьмина НЕ, Лутцева АИ. Разработка методик подтверждения подлинности фармацевтических субстанций триптoreлина ацетат и гозерелина ацетат методом ЯМР-спектроскопии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2019;9(1):54–63. [Moiseev SV, Kuz'mina NE, Luttseva AI. Development of identification test methods for triptorelin acetate and goserelin acetate substances using NMR spectroscopy. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2019;9(1):54–63 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-1-54-63>
55. Raczynska ED, Makowski M, Hallmann M, Kaminska B. Geometric and energetic consequences of prototropy for adenine and its structural models—a review. *RSC Adv.* 2015;5:36587–604. <https://doi.org/10.1039/c4ra17280a>
56. Olbe L, Carlsson E, Lindberg P. A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2(2):132–9. <https://doi.org/10.1038/nrd1010>
57. Yang R, Schulman SG, Zavala PJ. Acid-base chemistry of omeprazole in aqueous solutions. *Anal Chim Acta.* 2003;481(1):155–64. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00076-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00076-X)

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Кузьмина Наталья Евгеньевна, д-р хим. наук. *Natalia E. Kuz'mina*, Dr. Sci. (Chem.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>

Моисеев Сергей Владимирович, канд. хим. наук, доцент. *Sergey V. Moiseev*, Cand. Sci. (Chem.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-1310-4477>

Лутцева Анна Ивановна, канд. фарм. наук. *Anna I. Luttseva*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8752-5245>

Статья поступила 15.05.2019
После доработки 07.11.2019
Принята к печати 20.01.2020

Article was received 15 May 2019
Revised 7 November 2019
Accepted for publication 20 January 2020



Подписку на журнал можно оформить в любом отделении «Почты России».

Подписной индекс издания:
в каталоге Агентства «Роспечать»
«Издавания органов научно-технической информации» — 57942

С любого номера
в региональных агентствах подписки:
Урал-Пресс (www.ural-press.ru) — 57942

По объединенному каталогу
«Пресса России» (www.pressa-rr.ru) — T57942