

УДК 547.775

Шепилова С.О., Идрисова А.Ф.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ ПЕРВИЧНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА 3-БРОМ-1-(1,1-ДИОКСОТИЕТАН-3-ИЛ)-4-НИТРО-*N*-ФЕНИЛ-1*H*-ПИРАЗОЛ-5-АМИНА

Научный руководитель – д.фарм.н., доцент Е. Э. Клен

Башкирский государственный медицинский университет, г.Уфа

Проведен анализ субстанции **IV**, отобранной для разработки первичного стандартного образца методами: ИК- и ЯМР ^1H и ^{13}C - спектроскопий. Полученные в ходе исследований результаты показали возможность использования данных физико-химических методов для идентификации структуры первичного стандартного образца субстанции **IV**, который послужит основой для проведения дальнейших исследований с целью разработки лабораторного регламента на производство и методик контроля качества *drug*-кандидата.

Ключевые слова: 1,1-диоксотиетан, пиразол, амин, первичный стандартный образец.

Shepilova S.O., Idrisova A.F.

DEVELOPMENT OF METHODS FOR IDENTIFICATION OF PRIMARY REFERENCE SAMPLE OF 3-BROMO-1-(1,1-DIOXOTHIETAN-3-YL)-4-NITRO-*N*-PHENYL-1*H*-PYRAZOLE-5-AMINE

Scientific supervisor – Doctor of Pharmaceutical Sciences, associate Professor E. E. Klen

Bashkir state medical University, Ufa

The analysis of substance **IV** selected for the development of the primary standard sample by the methods of IR and NMR ^1H and ^{13}C spectroscopy was carried out. The results obtained during the research showed the possibility of using these physicochemical methods to identify the structure of the primary standard sample of substance **IV**. These methods will serve as the basis for further research in order to develop laboratory regulations and quality control methods for drug candidates.

Keywords: 1,1-dioxothiethane, pyrazole, amine, primary standard sample.

При разработке лабораторного регламента на производство и методик контроля качества *drug*-кандидатов, обычно применяются фармакопейные методы анализа с использованием стандартных образцов [1].

В настоящее время установлено, что 3-бром-1-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-4-нитро-*N*-фенил-1*H*-пиразол-5-амин (**IV**) является перспективным соединением в качестве *drug*-кандидата, который проявляет выраженный антидепрессивный эффект [2, 3], поэтому разработка первичного стандартного образца для него является актуальной задачей.

Цель работы

Разработка методик идентификации первичного стандартного образца 3-бром-1-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-4-нитро-*N*-фенил-1*H*-пиразол-5-амина.

Материал и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали трехкратно перекристаллизованную субстанцию 3-бром-1-(1,1-диоксотиетан-3-ил)-4-нитро-*N*-фенил-1*H*-пиразол-5-амина (**IV**). Субстанция **IV** была проанализирована по органолептическим и некоторым физико-химическим показателям на основании требований Государственной фармакопеи РФ XV издания, предъявляемым к качеству первичного стандартного образца [4, 5].

Показатель "внешний вид" субстанции определяли согласно ОФС «Общие положения» Государственной фармакопеи РФ XV издания [6].

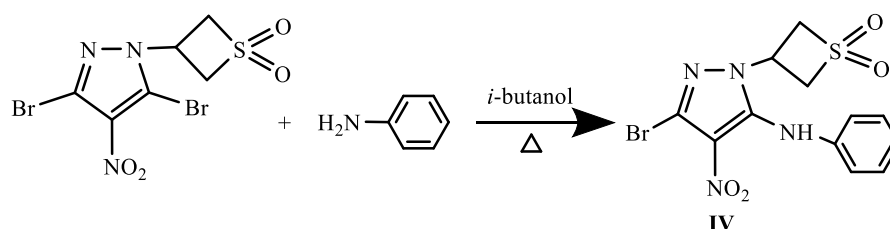
Инфракрасный спектр субстанции **IV** снимали на спектрометре Инфралюм ФТ-02 в таблетках с калия бромидом в интервале $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ с разрешением 4 см^{-1} согласно ОФС «Спектрометрия в ближней инфракрасной области». Отнесение полос поглощения в ИК-спектре осуществлялось в соответствии с литературными данными [7, 9].

Определение значений химических сдвигов образца субстанции **IV** проводили методом ЯМР-спектроскопии ^1H и ^{13}C [1, 8]. Химические сдвиги в ^1H , ^{13}C ЯМР-спектрах приведены относительно остаточных сигналов растворителя ДМСО- d_6 (2,50 м. д. для ядер ^1H , 39,6 м. д. для ядер ^{13}C). Редактирование ^{13}C ЯМР-спектров на основании экспериментов DEPT-90 и DEPT-135.

Результаты и обсуждения

3-Бром-1-(1,1-диоксотетан-3-ил)-4-нитро-*N*-фенил-1*H*-пиразол-5-амин (**IV**) был ранее синтезирован по методике [2, 3] с выходом 65% (Схема 1). Очистку субстанции **IV** проводили методом трехкратной перекристаллизации соединения из изобутанола (марка х.ч.).

Схема 1



В качестве основных показателей качества были выбраны: внешний вид и физико-химические методы анализа: ИК-спектроскопия и ^1H , ^{13}C ЯМР - спектроскопия.

3-Бром-1-(1,1-диоксотетан-3-ил)-4-нитро-*N*-фенил-1*H*-пиразол-5-амин (**IV**) представляет собой кристаллический порошок кирпично-оранжевого цвета.

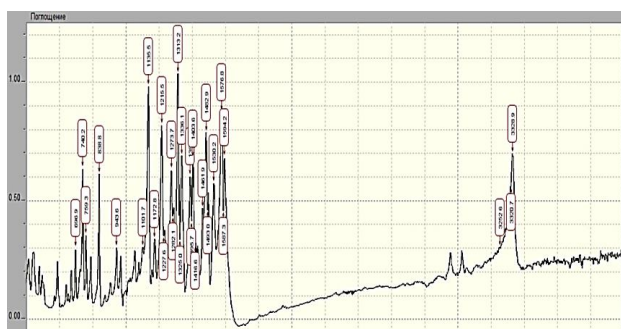


Рис. 1. ИК-спектр субстанции **IV** в таблетках с калия бромидом.

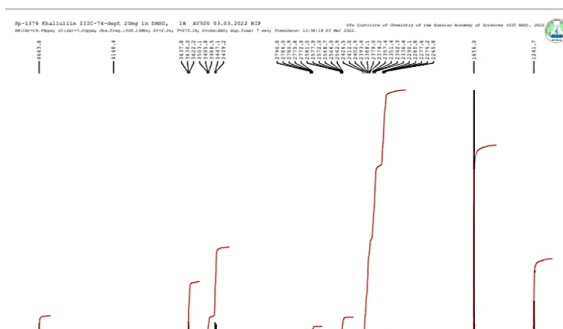


Рис.. 2. Спектр ЯМР ^1H образца субстанции **IV** в ДМСО- d_6 .

На первом этапе исследований для субстанции **IV** сняты ИК-спектры. ИК-спектроскопия широко используется для идентификации веществ и позволяет достоверно определять их структуру [7].

Представленный ИК-спектр (Рис.1.) имеет характеристические полосы поглощения (KBr), cm^{-1} : 1136, 1273, 1313, 1336, 1463, 1577, 1594, 3329.

Наличие полосы поглощения при 3329 cm^{-1} характерно для валентных колебаний NH-группы. Валентные колебания C-N, C=N, C=C связей пиразольного цикла наблюдаются при 1273, 1463, 1594 cm^{-1} , связей SO_2 -группы тиазанового цикла при 1136 и 1313 cm^{-1} . Симметричные и асимметричные валентные колебания NO_2 -группы дают полосы при 1336 и 1577 cm^{-1} [5,6].

На следующем этапе для субстанции **IV** провели сопоставление сигналов в ЯМР ^1H -спектре по химическим сдвигам и форме с соответствующими участками молекулы [8].

Спектр ЯМР ^1H -спектр δ , м. д.: 4,53 – 4,58 (м, 2H, $\text{S}(\text{CH})_2$), 4,67 – 4,71 (м, 2H, $\text{S}(\text{CH})_2$), 5,11 – 5,17 (м, 1H, NCH), 6,88 – 6,89 (м, 2H, CH_{ar}), 6,97 – 7,00 (м, 1H, CH_{ar}), 7,24 – 7,27 (м, 2H, CH_{ar}), 9,33 (уш.с, 1H, NH).

Сигналы протонов тиазан-1,1-диоксидного цикла наблюдаются в виде двух мультиплетов около 4,53–4,58 и 4,67–4,71 м. д. (две $\text{S}(\text{CH}_2)_2$ -группы) и одного мультиплета при 5,11–5,17 м. д. (NCH-группа). Протоны фрагмента анилина регистрируются в спектре в виде трех мультиплетов в интервале 6,88–7,27 м. д. и уширенного синглета NH-группы при 9,33 м. д.

Далее проведена интерпретация ^{13}C ЯМР-спектра субстанции **IV** [8].

^{13}C ЯМР-спектр δ , м. д.: 39,0 (NCH), 71,0 ($\text{S}(\text{CH}_2)_2$), 118,2 (CH_{ar}), 123,0 (CH_{ar}), 124,0 (C^3), 129,7 (CH_{ar}), 141,2 ($\text{C}^{1/}$), 142,5 (C^5).

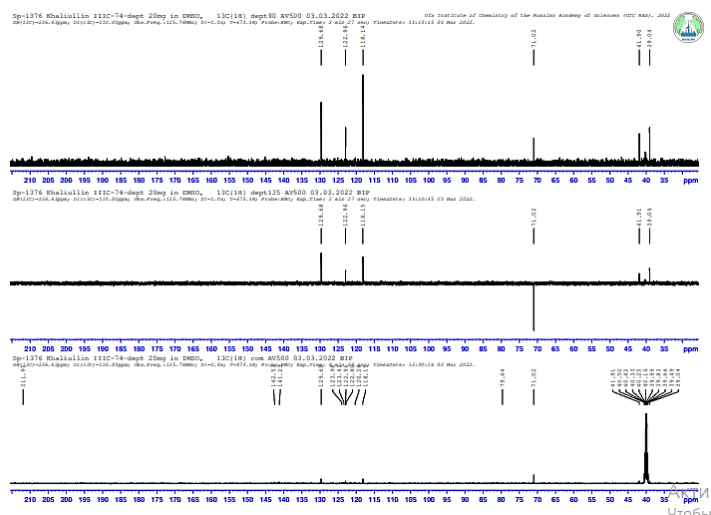


Рис. 3 Спектр ЯМР ^{13}C образца субстанции IV в ДМСО- d_6

В спектре ЯМР ^{13}C регистрируются сигналы атомов углерода тиазан-1,1-диоксидного цикла при 71,0 м. д. и 39,0 м. д. Сигналы при 118,2, 123,0 и 129,7 м. д. относятся к атомам углерода фрагмента анилина. Также с помощью этого спектра становится возможным идентификация и отнесение атомов углерода пиразольного цикла.

Положение и мультиплетность сигналов на спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C образца субстанции IV не противоречит химическому строению соединения.

Закключение и выводы

Таким образом, проведен анализ субстанции IV, отобранного для разработки первичного стандартного образца методами ИК- и ЯМР ^1H и ^{13}C - спектроскопии. Полученные в ходе исследований результаты показали возможность использования данных физико-химических методов для идентификации структуры первичного стандартного образца субстанции IV.

ЛИТЕРАТУРА

1. Щепочкина О. Ю.. Современные подходы к разработке стандартных образцов лекарственных средств/ О. Ю. Щепочкина, В. И. Гегечкори, В. И. Прокофьева [и др.] //Химико-фармацевтический журнал. 2020. Т. 54. №. 7. С. 49-54.
2. Патент № 2801039 С1 Российская Федерация, МПК C07D 409/04, C07D 409/14, A61K 31/4155. 5-аминозамещенные тиазансодержащие 3-бром-4-нитропиразолы с антидепрессивной активностью : № 2022130410 : заявл. 24.11.2022 : опубл. 01.08.2023 / Е. Э. Клен, И. Л. Никитина, С. О. Шпилова [и др.].
3. Клен Е.Э. Синтез и антидепрессивная активность 5-аминозамещенных 3-бром-1-(1,1-диоксотиазан-3-ил)-4-нитро-1H- пиразолов/ Клен Е.Э., Никитина И.Л., Халиуллин Ф.А. [и др.]//Химико-фармацевтический журнал, 2023, Т. 57, N 8, С. 33-40.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Электронный ресурс: URL: <https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/10/gosudarstvennaya-farmakopeya-rossiyskoy-federatsii-xv-izdaniya>. (Дата посещения: 12.03.24).

5. ОФС.1.1.0007. Общая фармакопейная статья. Стандартные образцы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание. Том I. Электронный ресурс: URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/standartnye-obraztsy>. (Дата посещения: 12.03.24).
6. ОФС.1.1.0001. Общая фармакопейная статья. Общие положения". Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание. Том I. Электронный ресурс: URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/obshchie-polozheniya/>. (Дата посещения: 12.03.24).
7. ОФС.1.2.1.1.0001. Общая фармакопейная статья. Спектрометрия в ближней инфракрасной области". Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание. Том I. Электронный ресурс: URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektrometriya-v-blizhney-infrakrasnoyoblasti>. (Дата посещения: 12.03.24).
8. ОФС.1.2.1.1.0007. Общая фармакопейная статья. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание. Том I. Электронный ресурс: URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektroskopiya-yadernogo-magnitnogo-rezonansa>. (Дата посещения: 12.03.24).
9. Сильверстейн, Р. Спектрометрическая идентификация органических соединений / Р. Сильверстейн, Ф. Вебстер, Д. Кимл. – БИНОМ. Лаб. Знаний: 2011.

Сведения об авторах статьи:

1. **Шепилова Светлана Олеговна** – научный сотрудник лаборатории поиска малых таргетных молекул ИФМ ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: svetikshepilova@mail.ru
2. **Идрисова Асия Фаиловна** – магистрант 2 года обучения кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: asyaliven@gmail.com