

На правах рукописи



Дрозд Ксения Викторовна

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ
МОЛЕКУЛЯРНЫХ КРИСТАЛЛОВ НА ОСНОВЕ
4-АМИНОСАЛИЦИЛОВОЙ И 4-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТ**

02.00.04 – физическая химия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Иваново – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук (ИХР РАН)

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Перлович Герман Леонидович

Официальные оппоненты: Ключев Михаил Васильевич
доктор химических наук, профессор
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Ивановский государственный университет”, профессор кафедры органической и физической химии

Душкин Александр Валерьевич
доктор химических наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук, группа механохимии органических соединений, главный научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Защита состоится 19 декабря 2019 года в 10 часов на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 002.106.01 при ИХР РАН по адресу: 153045, г. Иваново, ул. Академическая, д.1, тел.: (4932)336272, e-mail: dissovet@isc-ras.ru, факс (4932)336237.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ИХР РАН <http://www.isc-ras.ru/?q=ru/deyatelnost/dissertacionnyy-sovet/>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Антина Е.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень ее разработанности. Исследования последних лет показали, что большинство биологически активных соединений имеют крайне низкую растворимость в водных средах. Число таких соединений на стадии разработки может достигать 90%. Более того, анализ имеющихся на рынке препаратов перорального применения показал, что порядка 40% из них классифицируются как практически нерастворимые в воде. В настоящий момент существует большое количество подходов для повышения растворимости лекарственных соединений. Однако многие из них обладают недостатками, ограничивающими возможность их использования. Новым перспективным методом повышения растворимости лекарственных соединений и улучшения других значимых физико-химических свойств является метод сокристаллизации. За последнее время были предложены новые методы скрининга, идентификации и исследования сокристаллов. Получено множество сокристаллов с улучшенными показателями растворимости, некоторые из которых уже используются в фармацевтике. Однако до сих пор не предложен универсальный подход к их скринингу. Кроме того, из-за высокой трудоемкости многие методы исследования сокристаллов до сих пор используются недостаточно активно. Поэтому важными и актуальными вопросами является разработка подходов к получению и исследованию сокристаллов на основе структурно-родственных соединений. Данные исследования помогут сформулировать основные критерии подбора коформеров, разработать условия проведения эксперимента и выявить возможности прогнозирования физико-химических свойств сокристаллов.

Цель научно-квалификационной работы заключалась в получении и исследовании новых многокомпонентных молекулярных кристаллов 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот, а также в выявлении основных закономерностей изменения их физико-химических свойств от состава.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- С использованием различных экспериментальных методов провести скрининг двухкомпонентных систем на основе 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот с рядом родственных по структуре коформеров на предмет образования сокристаллов.

- Подобрать оптимальные условия для выращивания монокристаллов многокомпонентных кристаллов, пригодных для рентгеноструктурного анализа и расшифровать их кристаллические структуры. Описать упаковки молекул в кристаллах, их конформационные состояния и топологию сеток водородных связей.
- Получить характеристики процессов плавления многокомпонентных кристаллов. Выявить корреляционные зависимости между температурами плавления многокомпонентных кристаллов и используемых коформеров.
- Определить характеристики процессов растворения многокомпонентных кристаллов в буферных растворах с различными значениями pH. Выявить закономерности влияния коформера на растворимость объектов исследования в составе многокомпонентных кристаллов.
- С использованием различных подходов получить термодинамические характеристики процессов образования двухкомпонентных молекулярных кристаллов и провести их сравнительный анализ.

Научная новизна.

- В результате скрининга двухкомпонентных систем подтверждено образование 14 новых многокомпонентных кристаллов.
- Выращены новые монокристаллы многокомпонентных кристаллов на основе 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот, расшифрованы их кристаллические структуры. Осуществлен сравнительный анализ упаковок и конформационных состояний молекул в кристаллах, а также геометрии и топологии сеток водородных связей.
- Впервые изучены процессы плавления и растворения полученных многокомпонентных кристаллов 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот. Выявлены линейные корреляционные зависимости между температурами плавления многокомпонентных кристаллов и коформеров. Обнаружена закономерность влияния коформера на растворимость активного фармацевтического ингредиента (АФИ) в буферах с различным значениями pH. Показано влияние сокристаллизации на повышение химической стабильности АФИ.

- С использованием различных подходов впервые рассчитаны термодинамические параметры образования двухкомпонентных молекулярных кристаллов на основе 4-аминобензойной кислоты. Проанализирована эффективность использования этих подходов для оценки термодинамических характеристик.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Выращены монокристаллы и впервые расшифрованы кристаллические структуры десяти многокомпонентных молекулярных кристаллов на основе 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот. Кристаллографические данные были внесены в Кембриджскую базу структурных данных под следующими номерами: 1495674-1495676, 1544195-1544197, 1875865-1875868. Копии этих данных могут быть получены при обращении в CCDC (Cambridge Crystallographic Data Center), 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK (Fax: +44-1223/336 - 033, E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk). На основе анализа кристаллических структур впервые полученных многокомпонентных кристаллов и кристаллов, внесенных в Кембриджскую базу структурных данных, была выявлена иерархия структурообразующих мотивов.

Были получены патенты на сокристаллы 4-аминобензойной кислоты с изониазидом (патент РФ № 2630957, 2017) и дифлунисала с изониазидом (патент РФ № 2617849, 2017). Запатентованные сокристаллы могут быть использованы в качестве противотуберкулезных препаратов. Проведенное исследование показало, что метод сокристаллизации является способом повышения химической стабильности 4-аминосалициловой кислоты, что существенно увеличивает срок хранения лекарственного соединения.

Методология и методы диссертационного исследования.

Методологической основой исследования выступали общенаучные и специальные методы, такие как эксперимент, синтез, анализ, обобщение и сравнение.

Для решения поставленных задач в рамках данного научного исследования использовались различные экспериментальные методы: дифференциальная сканирующая калориметрия, рентгенофазовый и рентгеноструктурный анализ, термогравиметрия, термомикроскопия, УФ-спектрофотометрия, жидкостная

хроматография, механохимический метод скрининга, сонификация, суспензионный метод, кристаллизация из раствора.

Положения, выносимые на защиту:

- Результаты скрининга новых многокомпонентных кристаллов 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот. Влияние структурных характеристик индивидуальных соединений на скрининг многокомпонентных кристаллов.
- Способы получения монокристаллов 10 многокомпонентных кристаллов 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот и данные об их кристаллических структурах. Сравнительный анализ кристаллических структур многокомпонентных кристаллов на основе 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот совместно с литературными данными.
- Данные о процессах плавления новых многокомпонентных кристаллов. Зависимости между температурами плавления многокомпонентных кристаллов и коформеров.
- Данные о процессах растворения многокомпонентных кристаллов в буферных растворах с различными значениями pH. Результаты анализа влияния физико-химических свойств используемых коформеров на растворимость 4-аминосалициловой и 4-аминобензойной кислот в составе многокомпонентных кристаллов. Результаты анализа влияния сокристаллизации на химическую стабильность 4-аминосалициловой кислоты.
- Термодинамические параметры процесса образования двухкомпонентных молекулярных кристаллов на основе 4-аминобензойной кислоты, полученные с использованием различных подходов, и результаты их сравнительного анализа.

Достоверность полученных результатов и выводов. Достоверность результатов обусловлена воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с применением современного, высокоточного и откалиброванного оборудования с использованием только химически чистых реактивов, а так же согласованностью полученных результатов с имеющимися литературными данными. Достоверность результатов подтверждается публикациями в рецензируемых журналах с высоким импакт-факторов.

Связь темы диссертации с плановыми исследованиями.

Диссертация выполнена в лаборатории IV-1 «Физическая химия лекарственных соединений» ИХР РАН в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 гг. по теме «Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний», в рамках госзаказа по теме «Разработка скрининговых подходов получения растворимых форм лекарственных соединений с нейротропной активностью на основе сокристалльных технологий» (мнемокод: 0092-2014-0005, рег. № 01201260485). Исследования поддержаны грантами РНФ №14-13-00640 «Разработка научных основ создания биодоступных лекарственных препаратов нового поколения с использованием сокристалльной технологии на примере противотуберкулезных соединений» и РНФ №17-73-10351 «Создание новых лекарственных соединений антибактериального действия на основе многокомпонентных молекулярных кристаллов».

Апробация работы. Основные результаты диссертационного исследования были представлены на X Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем (Крестовские чтения)» (Иваново, 26-30 октября 2015 г.), IX Международной научной конференция «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы будущего» (Иваново, 13-16 сентября 2016 г.), XX Всероссийской конференции молодых учёных-химиков (с международным участием) (Нижний Новгород, 18-20 апреля 2017 г.), XI Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем (Крестовские чтения)» (Иваново, 30 октября-4 ноября 2017 г.), XXI Всероссийской конференции молодых ученых-химиков (с международным участием) (Нижний Новгород, 15-17 мая 2018 г.), Кластере Конференций 2018: X Международной научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы нового поколения» (Суздаль, 1-6 июля 2018 г.), XXII Всероссийской конференции молодых ученых-химиков (с международным участием) (Нижний Новгород, 23-25 апреля 2019 г.), 4-ой Российской конференции по медицинской химии с

международным участием «МедХим-Россия 2019» (Екатеринбург, 9-14 июня 2019 г.).

Личный вклад автора заключается в подготовке, проведении большинства экспериментов, обработке данных, их интерпретации в соответствии с современными научными подходами, поиске закономерностей и обсуждении результатов совместно с соавторами. Представление результатов исследований на международных конференциях.

Анализ чистоты поликристаллических образцов проводился с использованием порошковой рентгенографии на приборе Верхневолжского регионального центра физико-химических исследований. Рентгеноструктурный анализ монокристаллов проводился на рентгеновском дифрактометре Bruker-Nonius X8-APExII CCD (ИОНХ РАН, Москва).

Публикации. По материалам научно-квалификационной работы опубликовано 4 статьи в журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science, 2 патента и 9 тезисов докладов, опубликованных в сборниках трудов конференций различного уровня.

Структура диссертации. Диссертационная работа состоит из следующих частей: введение, обзор литературы, экспериментальная часть, результаты и их обсуждения, заключение, список сокращений и условных обозначений, список использованной литературы (243 наименования), приложения 1 и 2. Работа изложена на 189 страницах и содержит 71 рисунок и 21 таблицу.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

3.1. Многокомпонентные кристаллы 4-аминосалициловой кислоты

4-Аминосалициловая кислота (PASA) – противотуберкулезное лекарственное средство второго ряда, используемое для лечения мультирезистентной формы туберкулеза совместно с другими противотуберкулезными средствами. Применение 4-аминосалициловой кислоты в медицинской практике осложняется плохой переносимостью, низкой растворимостью и химической стабильностью соединения. В результате необратимой реакции декарбоксилирования 4-аминосалициловая кислота

переходит в токсичный для человеческого организма 3-аминофенол, причем как в твердом состоянии, так и в растворе. Одним из перспективных способов повышения растворимости и стабильности лекарственных соединений является получение многокомпонентных молекулярных кристаллов.

Скрининг многокомпонентных кристаллов. На 2019 год в Кембриджской базе структурных данных депонировано 28 кристаллических структур многокомпонентных кристаллов 4-аминосалициловой кислоты, значительную часть которых составляют сокристаллы, образованных, в большинстве случаев, за счет кислотно-амидного или кислотно-пиридинового гетеросинтонов. Для данного исследования были подобраны коформеры, склонные к образованию в кристалле указанных супрамолекулярных мотивов, а именно: изониазид (IZN), пипразинамид (PipAm), никотинамид (NAM), изоникотинамид (iNAM), кофеин (Caf), теофиллин (Tph), карбамазепин (CBZ). При этом кристаллические структуры сокристаллов 4-аминосалициловой кислоты с IZN, PipAm и NAM были описаны ранее. Несмотря на то что данные системы являются перспективными объектами для практического применения, их ключевые физико-химические свойства практически не исследованы. В результате анализа семи двухкомпонентных смесей 4-аминосалициловая кислота + коформер с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии и рентгенофазового анализа во всех случаях было доказано образование новой кристаллической фазы.

Анализ кристаллических структур многокомпонентных кристаллов. В результате кристаллизации из различных органических растворителей или их смесей получены монокристаллы для шести новых многокомпонентных кристаллов 4-аминосалициловой кислоты различной стехиометрии, из которых выделены три сокристалла ([PASA+iNAM] (2:1), [PASA+Tph] (1:2), [PASA+CBZ] (1:1)), два сольвата сокристалла ([PASA+Caf+MeOH] (1:1:1), [PASA+CBZ+MeOH] (1:2:1)) и один гидрат сокристалла ([PASA+CBZ+H₂O] (1:2:1)). Анализ кристаллических структур всех известных многокомпонентных кристаллов PASA (28 кристаллов) позволил нам идентифицировать 3 основных супрамолекулярных мотива водородных связей. В 50% случаях наблюдалось образование кислотно-пиридинового и/или кислотно-амидного гетеросинтонов между компонентами. Более детальный анализ показал, что образующиеся в 12 из 28 случаев кислотно-

пиридиновые гетеросинтоны можно разделить на 2 типа: планарные и непланарные. Планарные синтоны стабилизированы $O-H\cdots N$ и $C-H\cdots O$ водородными связями между карбоксильной группой PASA и пиридиновым фрагментом коформера, находящими в одной плоскости. Образование непланарных кислотно-пиридиновых гетеросинтонов является следствием возникновения вторичных межмолекулярных взаимодействий и приводит к заметному искажению геометрии молекулы PASA.

Термический анализ многокомпонентных кристаллов. Термический анализ всех новых многокомпонентных кристаллов PASA был проведен с использованием методов ДСК/ТГ. Температуры начала плавления, энтальпии плавления и другие термоаналитические данные, полученные из ДСК/ТГ экспериментов, приведены в Таблице 1. Обнаружено, что температуры плавления всех систем находятся между температурами плавления исходных компонентов, что характерно для большинства известных сокристаллов. Для оценки температур плавления двухкомпонентных кристаллов PASA была построена линейная корреляционная зависимость между температурами плавления всех известных многокомпонентных кристаллов 4-аминосалициловой кислоты и температурами плавления коформеров (Рисунок 1).

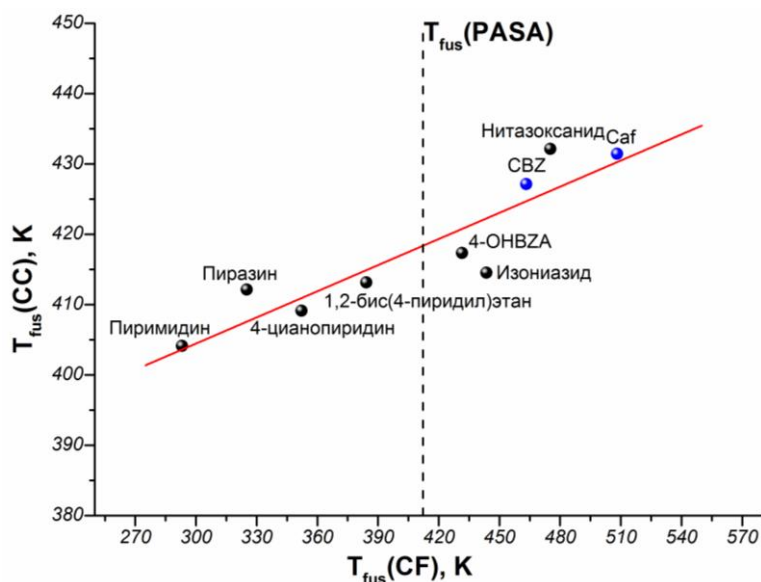


Рисунок 1. Зависимость температур плавления известных сокристаллов PASA (1:1) ($T_{fus}(CC)$) от температур плавления коформеров, образующих их ($T_{fus}(CF)$). Сокристаллы, исследуемые в данной работе, отмечены синим цветом.

На основе экспериментальных термодимических данных были рассчитаны энтальпии испарения растворителя (ΔH_s) из кристаллической решетки кристаллосольватов/кристаллогидратов PASA. Показано, что энергия связывания молекул растворителя зависит от особенностей их размещения в структуре «хозяина» и числа образующихся водородных связей.

Таблица 1. Термодимические характеристики многокомпонентных кристаллов 4-аминосалициловой кислоты

Система	$T_{fus}(CF)$ °C	T_{desolv} °C	ΔH_{desolv}^T Дж·г ⁻¹	Δm_s %	$T_{fus}(CC)$ °C	ΔH_{fus}^T кДж·моль ⁻¹	ΔH_s кДж·моль ⁻¹
PASA	139.1	-	-	-	-	61.2	-
[PASA+iNAM] (2:1)	156.6	-	-	-	144.2	156.3	-
[PASA+Caf] (1:1)	235.1	-	-	-	158.3	73.8	-
[PASA+Caf+MeOH] (1:1:1)	235.1	62	86	6.51	152.0	62.5	42.3
[PASA+Tph] (1:2)	271.1	-	-	-	155.3	65.7	-
[PASA+CBZ] (1:1)	190.1	-	-	-	154.0	77.8	-
[PASA+CBZ+H ₂ O] (1:2:1)	190.1	81.9	72.4	2.20	154.5	136.7	59.3
[PASA+CBZ+MeOH] (1:2:1)	190.1	74.7	76.5	4.56	150.8	103.5	53.7

$T_{fus}(CF)$ - температура плавления коформера, T_{desolv} - температура десольватации, ΔH_{desolv}^T - энтальпия десольватации, Δm_s - процент потери массы растворителя, $T_{fus}(CC)$ - температура плавления сокристалла, ΔH_{fus}^T - энтальпия плавления сокристалла, ΔH_s - энтальпия испарения растворителя

Исследование растворимости многокомпонентных кристаллов. Ввиду того, что 4-аминосалициловая кислота является амфолитом, она может проявлять как кислотные, так и основные свойства в зависимости от pH среды. По этой причине исследование растворимости PASA и ее многокомпонентных кристаллов с iNAM, Caf, Tph, IZN, PyrAm и NAM было проведено в буферных растворах с различным pH: в солянокислом (pH 2.0) и фосфатном (pH 7.4) при 25°C. В общей сложности было исследовано 6 систем, три из которых ([PASA+iNAM], [PASA+Caf] и [PASA+Tph]) являются оригинальными.

Согласно полученным данным, в обоих буферах сокристаллизация приводит к увеличению растворимости 4-аминосалициловой кислоты. Исключением является сокристалл [PASA+Tph] (1:2), растворимость которого в буфере с pH 2.0 ниже равновесной концентрации исходной 4-аминосалициловой кислоты. В процессе растворения сокристаллов максимальная концентрация PASA в растворе достигается в течение первого часа измерений и остается постоянной на протяжении всего эксперимента. Исключение составляют сокристаллы

[PASA+Caf] (1:1) и [PASA+Tph] (1:2), для которых процесс растворения проходит через стадии «пружины и парашюта». В солянокислом буфере растворимость PASA в сокристалле изменяется в следующем порядке: [PASA+IZN] (1:1) ~ [PASA+NAM+H₂O] (1:1:1) > [PASA+iNAM] (2:1) ~ [PASA+PyrAm+H₂O] (1:1:1) ~ [PASA+Caf] (1:1) > [PASA+Tph] (1:2), а в фосфатном буфере наблюдается иная последовательность: [PASA+Tph] (1:2) > [PASA+Caf] (1:1) > [PASA+iNAM] (2:1) ~ [PASA+IZN] (1:1) ~ [PASA+NAM+H₂O] (1:1:1) ~ [PASA+PyrAm+H₂O] (1:1:1). В результате было установлено, что растворимость PASA в составе сокристалла при конкретном значении pH существенно зависит от степени ионизации коформера в данных условиях.

3.2. Многокомпонентные кристаллы 4-аминобензойной кислоты

Скрининг многокомпонентных кристаллов. 4-Аминобензойная кислота (PABA), благодаря достаточно простому химическому строению, является одним из наиболее часто используемых соединений для получения многокомпонентных кристаллов. В данной работе скрининг многокомпонентных кристаллов PABA был проведен с тремя группами структурно родственных коформеров: производными пиримидина, пиридина и бензамида (Рисунок 2). Результаты экспериментального скрининга позволили выявить связь между структурными характеристиками коформеров (различный набор и положение функциональных групп, разное число доноров и акцепторов водородной связи) и их способностью образовывать сокристаллы с PABA.

Анализ кристаллических структур многокомпонентных кристаллов. В результате эксперимента по кристаллизации из различных органических растворителей были получены монокристаллы трех сокристаллов: [PABA+6-MeUr] (1:1), [PABA+BarbAc] (1:1), [PABA+4-OHBZA] (1:1) и соли [PABA+EMX] (1:1), расшифрованы их кристаллические структуры. Анализ кристаллических структур показал, что во всех исследуемых случаях образование многокомпонентных кристаллов PABA происходит за счет кислотно-пиридинового или кислотно-амидного гетеросинтонов, которые реализуются почти в половине из всех известных многокомпонентных кристаллов PABA. Отсутствие

внутримолекулярной связи у 4-аминобензойной кислоты, по сравнению с 4-аминосалициловой кислотой, делает молекулу более конформационно подвижной. Угол между средними плоскостями карбоксильной группы и фенильного кольца молекулы в составе многокомпонентных кристаллов варьируется в пределах 0-20°.

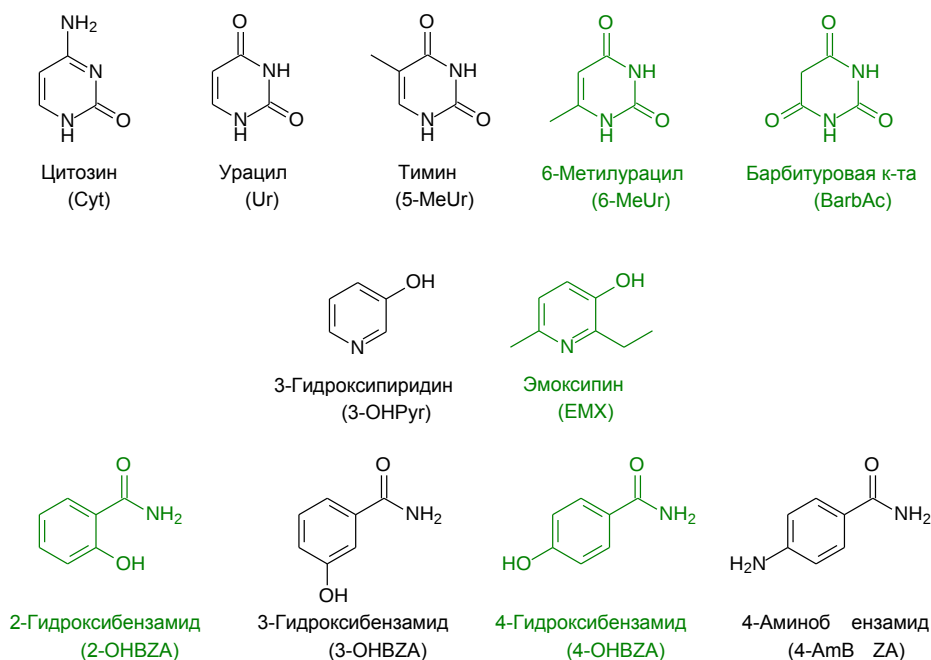


Рисунок 2. Структурные формулы коформеров, используемых для скрининга многокомпонентных кристаллов 4-аминобензойной кислоты. Зеленым цветом выделены коформеры, для которых было подтверждено образование новой кристаллической фазы с объектом исследования.

Термический анализ многокомпонентных кристаллов. Для многокомпонентных кристаллов 4-аминобензойной кислоты был проведен анализ на предмет наличия зависимости между температурами плавления сокристаллов/солей ($T_{fus}(CC)$) и их коформеров ($T_{fus}(CF)$). В результате для 23 многокомпонентных кристаллов была получена линейная корреляция между этими температурами, которая описывается уравнением:

$$T_{fus}(CC) / K = (177.5 \pm 24.7) + (0.56 \pm 0.05) \cdot T_{fus}(CF) \quad (1)$$

$R = 0.9220$, $SD = 15.4$, $n = 23$

Из полученного уравнения следует, что сокристаллы с более тугоплавким коформером имеют более высокую температуру плавления. Любопытно отметить, что для анализируемых двухкомпонентных кристаллов 4-аминобензойной кислоты выполняются следующие закономерности: для 5 из 23 (22 %) сокристаллов $T_{fus}(CC) < T_{fus}(CF)$ и $T_{fus}(PABA)$; для 3 (13 %) сокристаллов $T_{fus}(CF) <$

$T_{fus}(CC) < T_{fus}(PABA)$; для 15 (65 %) сокристаллов $T_{fus}(PABA) < T_{fus}(CC) < T_{fus}(CF)$.

Термодинамика образования многокомпонентных кристаллов. Для оценки термодинамических функций образования двухкомпонентных кристаллов РАВА были использованы два количественных подхода: подход, основанный на использовании метода фазовых диаграмм, и подход конгруэнтного растворения. В качестве объектов исследования были отобраны два сокристалла [РАВА + 6-MeUr] (1:1), [РАВА + PyrAm] (1:1) и соль [РАВА + EMX] (1:1).

Согласно подходу на основе фазовых диаграмм, процесс растворения сокристалла (1:1) включает две стадии: диссоциацию сокристалла на составляющие его компоненты и комплексообразование в растворе с учетом ионизации исследуемых компонентов:



$$K_{sp} = [A]_{aq} \cdot [B]_{aq} \quad (4)$$



$$K_{11} = \frac{[AB]_{aq}}{[A]_{aq} \cdot [B]_{aq}} = \frac{[AB]_{aq}}{K_{sp}} \quad (6)$$

Уравнения ионизации компонентов (если А – амфолит, В – кислота):



$$K_{a1}^{H_2A^+} = \frac{[HA]_{aq} \cdot [H^+]_{aq}}{[H_2A^+]_{aq}} \quad (8)$$



$$K_{a2}^{HA} = \frac{[A^-]_{aq} \cdot [H^+]_{aq}}{[HA]_{aq}} \quad (10)$$



$$K_a^{HB} = \frac{[B^-]_{aq} \cdot [H^+]_{aq}}{[HB]_{aq}} \quad (12)$$

где А и В – компоненты исследуемого сокристалла, K_{sp} - произведение растворимости сокристалла, K_{11} - константа комплексообразования. В случае соли в уравнениях (3) и (5) участвуют компоненты в ионизированном состоянии.

Согласно уравнениям (3) и (5), массовому балансу и допущению $K_{11} \cdot K_{sp} \ll [B]_T$, растворимость сокристалла выражается следующим образом (где компонент А – амфолит, компонент В – кислота):

$$[A]_T = \frac{K_{sp}}{[B]_T} \cdot \left(1 + 10^{pK_{a1}^{H_2A^+} - pH} + 10^{pH - pK_{a2}^{HA}} \right) \cdot \left(1 + 10^{pH - pK_a^{HB}} \right) + K_{11} \cdot K_{sp} \quad (13)$$

В качестве примера на Рисунке 3 представлена полученная зависимость растворимости сокристалла [РАВА + 6-MeUr] (1:1) от концентрации РАВА в буфере рН 7.4 при 298.15 К. В области, где исследуемые сокристаллы/соль являются единственной термодинамически стабильной твердой фазой, их растворимости существенно зависят от концентрации одного из компонентов в растворе.

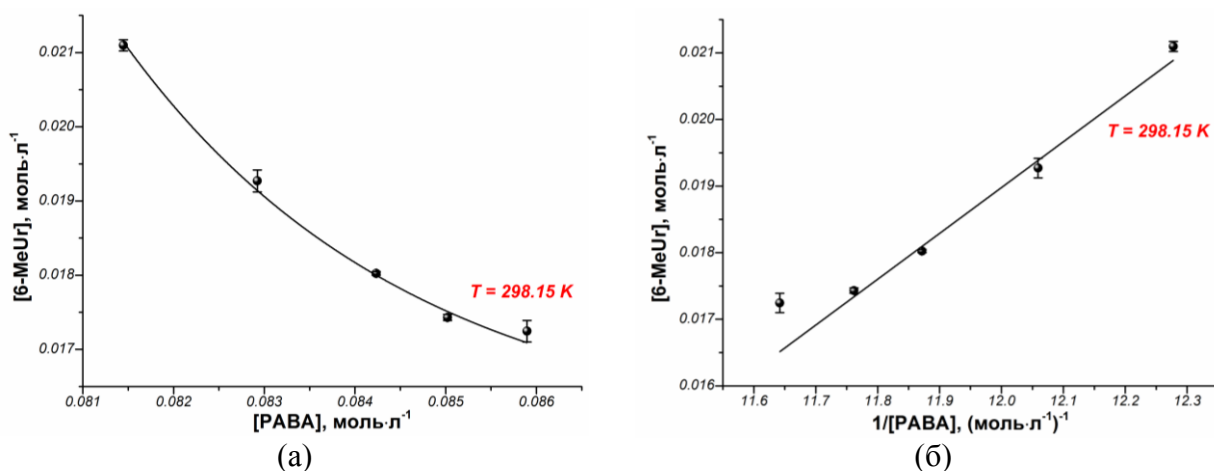


Рисунок 3. (а) Фазовая диаграмма растворимости [РАВА+6-MeUr] (1:1), (б) график линейной зависимости концентрации 6-MeUr от обратной концентрации РАВА в буфере рН 7.4 при 298.15 К.

Для расчета термодинамических функций процесса образования двухкомпонентных кристаллов использовалось уравнение:

$$\Delta G_f^{298} = -R \cdot T \cdot \ln \left(\frac{S_A^p \cdot S_B^p}{K_{sp}} \right) = -R \cdot T \cdot \ln K_f \quad (14)$$

где S_A^p и S_B^p - растворимости исходных компонентов А и В в используемом растворителе при определенной температуре. Если значения K_f известны при

различных температурах, для определения энтальпии образования (ΔH_f^{298}) сокристалла/соли можно использовать уравнение Вант-Гоффа:

$$\frac{d \ln K_f}{d(1/T)} = -\frac{\Delta H_f^{298}}{R} \quad (15)$$

Для расчета изменения энтропии образования (ΔS_f^{298}) использовалось общее уравнение, связывающее различные термодинамические функции:

$$\Delta G_f^{298} = \Delta H_f^{298} - T \cdot \Delta S_f^{298} \quad (16)$$

Аналогичные уравнения были использованы и для расчета термодинамических функций комплексообразования. Рассчитанные термодинамические функции процессов образования и комплексообразования в буфере pH 7.4 при 298.15 К представлены в Таблице 2.

Как видно из Таблицы 2, значения энтальпии комплексообразования сокристалла и соли достигают $-45 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$, что количественно близко по значению к энергии кислотно-амидного и кислотно-пиридинового гетеросинтонов. Можно предположить, что комплексообразование в растворе характеризуется формированием гетеродимеров между компонентами.

Таблица 2. Стандартные термодинамические функции образования и комплексообразования сокристаллов [PABA+6-MeUr], [PABA+PyrAm] и соли [PABA+EMX] в буфере pH 7.4 при 298.15 К

	ΔG_f^{298} , кДж·моль ⁻¹	ΔH_f^{298} , кДж·моль ⁻¹	$T \cdot \Delta S_f^{298}$, кДж·моль ⁻¹
[PABA+6-MeUr] (1:1)	0.9±0.1		
[PABA+PyrAm] (1:1)	-6.1±0.3	-39.6±2.9	-33.5±3.0
[PABA+EMX] (1:1)	-22.5±1.0	-74.9±4.0	-52.4±5.2
	ΔG_{11}^{298} , кДж·моль ⁻¹	ΔH_{11}^{298} , кДж·моль ⁻¹	$T \cdot \Delta S_{11}^{298}$, кДж·моль ⁻¹
[PABA+PyrAm] (1:1)	-9.3±0.3	-45.4±2.3	-36.1±3.0
[PABA+EMX] (1:1)	-4.8±0.1	-46.2±5.2	-41.4±5.5

Если целью исследования является определение только термодинамических параметров процесса образования многокомпонентного кристалла, то можно использовать более быстрый подход конгруэнтного растворения. Рассчитанные термодинамические функции образования многокомпонентных кристаллов 4-аминобензойной кислоты в буфере pH 7.4 при 298.15 К представлены в Таблице 3.

Результаты показывают хорошую сходимость со значениями, полученными на основе подхода фазовых диаграмм. В среднем отклонение значений энергии Гиббса, определенных с использованием рассматриваемых подходов, находится в пределах 3 кДж·моль⁻¹. Различие в энтальпиях образования сокристалла составляет 6 кДж·моль⁻¹. В случае соли [РАВА+ЕМХ] (1:1) значения, полученные с использованием разных подходов, находятся в пределах экспериментальной погрешности. Таким образом, если не стоит задача оценки термодинамики комплексообразования между компонентами в растворе (или отсутствия каких-либо молекулярных комплексов), подход конгруэнтного растворения можно использовать для определения термодинамических параметров растворения сокристаллов и солей, и сравнения этих параметров с термодинамикой образования двухкомпонентных молекулярных кристаллов.

Таблица 3. Стандартные термодинамические функции образования сокристалла и соли РАВА в буфере pH 7.4 при 298.15 K

	ΔG_f^{298} , кДж·моль ⁻¹	ΔH_f^{298} , кДж·моль ⁻¹	$T \cdot \Delta S_f^{298}$, кДж·моль ⁻¹
[РАВА+6-MeUr] (1:1)	-0.9±0.1	-27.7±1.1	-26.8±1.9
[РАВА+PyrAm] (1:1)	-3.8±0.2	-45.8±1.8	-42.0±3.8
[РАВА+ЕМХ] (1:1)	-25.6±1.0	-76.9±1.6	-51.3±3.0

Подход, основанный на анализе конкурирующих реакций, может быть использован как экспресс-метод для качественной оценки термодинамической стабильности исследуемых многокомпонентных кристаллов. Основная идея этого подхода заключается в механохимической обработке компонента А в присутствии двух конкурирующих коформеров, каждый из которых образует двухкомпонентный молекулярный кристалл с компонентом А. В нашем исследовании готовились трехкомпонентные физические смеси следующего состава: (РАВА+6-MeUr+PyrAm), (РАВА+6-MeUr+ЕМХ) и (РАВА+PyrAm+ЕМХ)) со стехиометрией компонентов (1:1:1), которые далее подвергались механохимической обработке в планетарной микромельнице в присутствии небольшого количества этанола. Дифрактограммы полученных образцов, индивидуальных соединений и их многокомпонентных кристаллов представлены на Рисунке 4.

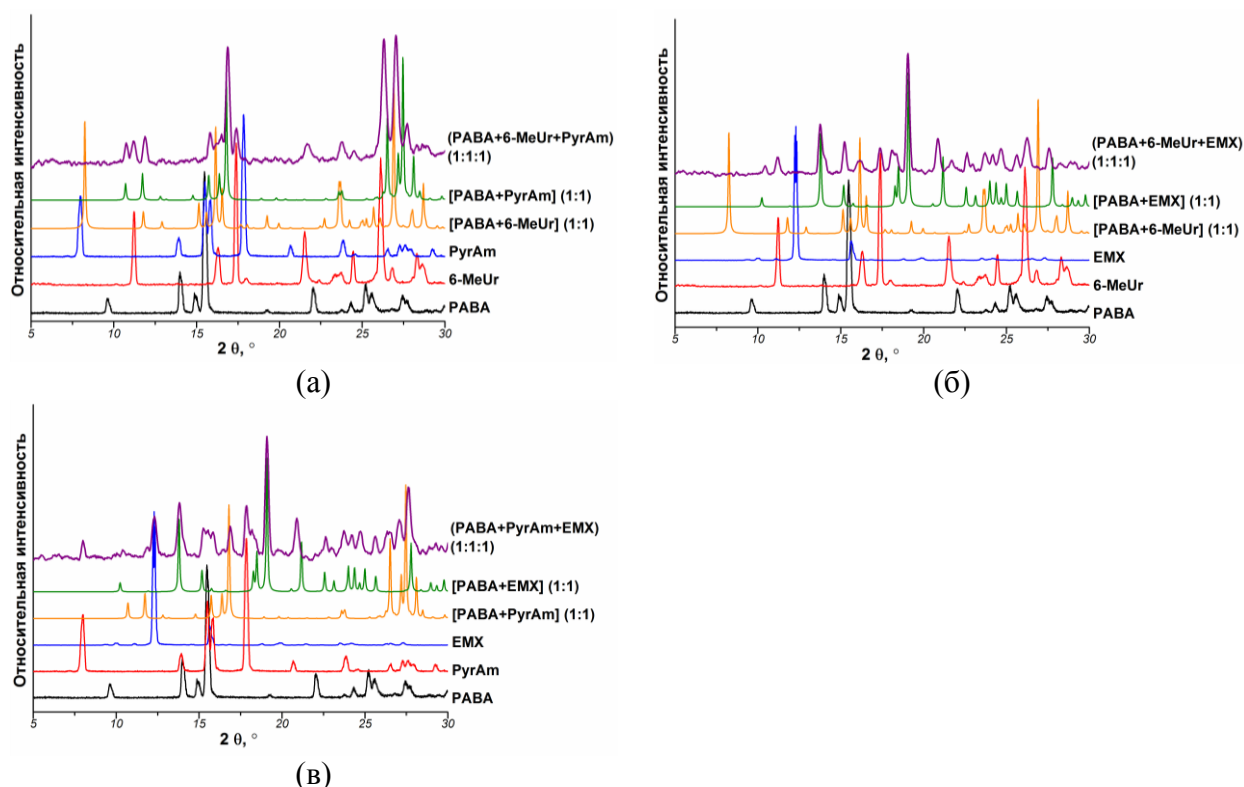


Рисунок 4. Сравнение порошковых дифрактограмм образцов в результате перемола тройных систем: (а) (PABA+6-MeUr+PyrAm) (1:1:1), (б) (PABA+6-MeUr+EMX) (1:1:1), (в) (PABA+PyrAm+EMX) (1:1:1) с соответствующими порошковыми дифрактограммами индивидуальных компонентов и дифрактограммами монокристаллов сокристаллов и/или соли.

Анализ полученных дифрактограмм показал, что при совместном перемоле 4-аминобензойной кислоты и 6-метилурацила с конкурирующими коформерами, пиразинамидом или эмоксипином, происходило образование сокристалла [PABA+PyrAm] (1:1) или соли [PABA+EMX] (1:1) (Рисунок 4 (а, б)). Данные результаты хорошо согласуются с термодинамическими характеристиками образования многокомпонентных кристаллов, полученными ранее. Образование сокристалла [PABA+6-MeUr] (1:1) из исходных компонентов является термодинамически менее выгодной реакцией по сравнению с альтернативными кристаллическими формами. Механохимическая обработка 4-аминобензойной кислоты с эквимольным количеством пиразинамида и эмоксипина привела к образованию соли [PABA+EMX] (1:1). Так же на дифрактограмме наблюдались следы сокристалла [PABA+PyrAm] (1:1) и непрореагировавших PyrAm и EMX. Таким образом, термодинамическая стабильность исследуемых двухкомпонентных кристаллов 4-аминобензойной кислоты убывает в следующем порядке: [PABA+EMX] (1:1) > [PABA+PyrAm] (1:1) > [PABA+6-MeUr] (1:1), что согласуется

с результатами, полученными с привлечением двух других подходов, рассмотренными ранее.

На примере двухкомпонентных молекулярных кристаллов 4-аминобензойной кислоты было показано, что термодинамическая стабильность многокомпонентных кристаллов может быть оценена с использованием различных подходов. Выбор того или иного подхода определяется целями исследования. В случае, когда целью исследования является качественная оценка термодинамической стабильности сокристаллов/солей, содержащих общий компонент, то подход, основанный на анализе конкурирующих реакций, является наиболее оптимальным, поскольку позволяет достичь поставленной цели с минимальными временными и материальными затратами. В свою очередь, подход, опирающийся на использование конгруэнтного растворения, позволяет с хорошей точностью количественно определить термодинамические параметры процесса образования многокомпонентного кристалла. В случае, когда помимо определения параметров образования многокомпонентного кристалла необходимо оценить еще и вклад комплексообразования, следует использовать подход, основанный на анализе фазовых диаграмм, который является наиболее трудоемким.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного исследования:

- Проведен скрининг сокристаллов 4-аминобензойной кислоты с рядом коформеров различной природы. В результате получено 7 новых сокристаллов. Обнаружена склонность 4-аминобензойной кислоты к образованию сокристаллов с коформерами, в структуре которых преобладают акцепторы водородной связи. Сформулированы рекомендации по подбору коформеров для оптимизации скрининга многокомпонентных кристаллов на основе 4-аминобензойной кислоты.
- Выращены монокристаллы для 4 новых многокомпонентных кристаллов на основе 4-аминосалициловой кислоты (с изоникотинамидом, теофиллином, 4-гидроксibenзамидом и карбамазепином), двух метанольных сольватов (с кофеином и с карбамазепином) и гидрата (с карбамазепином). Проведен рентгеноструктурный анализ с расшифровкой их кристаллических структур. Проанализированы упаковки молекул в кристаллической решетке, а

также геометрия и топология сеток водородных связей. Показано, что в сокристалле 4-аминосалициловой кислоты с изоникотинамидом реализуются одновременно два типа гетеросинтонов (кислотно-амидный и кислотно-пиридиновый), что является уникальным случаем для данной группы сокристаллов.

- Выращены монокристаллы для 5 новых многокомпонентных кристаллов 4-аминобензойной кислоты с 6-метилурациолом, барбитуровой кислотой, 4-гидроксibenзамидом и эмоксипином. Проведен рентгеноструктурный анализ с расшифровкой их кристаллических структур. Проанализированы упаковки молекул в кристаллической решетке, а также геометрия и топология сеток водородных связей. Совместный анализ полученных в работе и литературных данных по кристаллическим структурам сокристаллов 4-аминобензойной кислоты показал, что в 80% случаев образование многокомпонентных кристаллов из индивидуальных соединений происходит в результате замены димеров на гетеродимеры.

- Изучены процессы плавления полученных многокомпонентных кристаллов. Получены линейные корреляционные зависимости между температурами плавления многокомпонентных кристаллов и температурами плавления составляющих их коформеров. Проанализированы процессы десольватации/дегидратации многокомпонентных кристаллов.

- Исследованы процессы растворения, получены равновесные значения концентрации компонентов сокристалла и кинетические профили растворения в буферных растворах pH 2.0 и pH 7.4. Показано, что растворимость 4-аминосалициловой кислоты в сокристаллах увеличивается более чем в два раза. Доказано, что сокристаллизация приводит к замедлению процесса химического разложения 4-аминосалициловой кислоты в водном растворе.

- Получены фазовые диаграммы растворимости для двухкомпонентных молекулярных кристаллов на основе 4-аминобензойной кислоты при пяти температурах. Проведен сравнительный анализ двух подходов, основанных на использовании фазовых диаграмм и конгруэнтного растворения, для расчета термодинамических функций образования двухкомпонентных кристаллов. Показано, что второй подход позволяет с хорошей точностью получать

термодинамические характеристики образования многокомпонентного кристалла и требует меньших временных затрат на их определение по сравнению с первым подходом.

- Изучена термодинамическая стабильность многокомпонентных молекулярных кристаллов на основе 4-аминобензойной кислоты с применением подхода, основанного на анализе конкурирующих реакций. Полученные результаты хорошо согласуются с количественными термодинамическими характеристиками образования многокомпонентных кристаллов, рассчитанных на основе фазовых диаграмм растворимости и конгруэнтного растворения. Выявлено, что подход, основанный на анализе конкурирующих реакций, является наиболее экономичным и быстрым способом качественной оценки термодинамической стабильности многокомпонентных молекулярных кристаллов с одним общим компонентом.

Рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы. Полученные результаты могут быть использованы для создания биодоступных лекарственных соединений нового поколения и развития скрининговых алгоритмов для получения многокомпонентных молекулярных кристаллов с заданными свойствами.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. **Drozd, K.V.** Drug-drug cocrystals of antituberculous 4-aminosalicylic acid: Screening, crystal structures, thermochemical and solubility studies / **K.V. Drozd**, A.N. Manin, A.V. Churakov, G.L. Perlovich // Eur. J. Pharm. Sci. – 2017. – V. 99. – P. 228-239.
2. **Drozd, K.V.** Novel drug–drug cocrystals of carbamazepine with para-aminosalicylic acid: screening, crystal structures and comparative study of carbamazepine cocrystal formation thermodynamics / **K.V. Drozd**, A.N. Manin, A.V. Churakov, G.L. Perlovich // CrystEngComm. – 2017. – V. 19. – N. 30. – P. 4273-4286.
3. **Drozd, K.V.** Design of 4-aminobenzoic acid two-component molecular crystals: prediction and experiments / **K.V. Drozd**, A.N. Manin, A.V. Churakov, G.L. Perlovich // CrystEngComm. – 2019. – V. 21. – N. 13. – P. 2119-2129.
4. **Drozd, K.V.** Comparative analysis of experimental methods for determining thermodynamic parameters of formation of multi-component molecular crystals: Benefits and limitations / **K.V. Drozd**, A.N. Manin, G.L. Perlovich // J. Mol. Liq. – 2019. – V. 295. – P. 111644(7).

5. Перлович Г.Л., Манин А.Н., Дрозд К.В. Сокристаллическая форма дифлунисала. Патент № 2617849, Бюллетень № 13, опубликовано: 28.04.2017.
6. Перлович Г.Л., Манин А.Н., Дрозд К.В. Сокристаллическая форма изониазида. Патент № 2630957, Бюллетень № 26, опубликовано: 15.09.2017.
7. **Дрозд, К.В.** Сольватированная и несольватированная формы сокристалла пара-аминосалициловой кислоты с кофеином: получение, стабильность, свойства / **К.В. Дрозд**, А.Н. Манин // Тез. докл. X Всероссийской школы-конференции молодых ученых «Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем» (Крестовские чтения). – 2015. – С. 132.
8. **Дрозд, К.В.** Влияние сокристаллизации на стабильность и растворимость компонентов в сокристалле карбамазепина с пара-аминосалициловой кислотой / **К.В. Дрозд**, А.Н. Манин // Тез. докл. IX Международной научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы будущего». – 2016. – С. 198.
9. Манин, А.Н. Получение сокристаллов пара-аминосалициловой кислоты для повышения растворимости и стабильности / А.Н. Манин, **К.В. Дрозд** // Тез. докл. X Международной конференции молодых ученых по химии «Менделеев-2017». – 2017. – С. 312.
10. **Дрозд, К.В.** Фармацевтические сокристаллы противотуберкулезного препарата / **К.В. Дрозд**, А.Н. Манин // Тез. докл. XX Всероссийской конференции молодых ученых-химиков (с международным участием). – 2017. – С. 92.
11. **Дрозд, К.В.** Фармацевтические сокристаллы карбамазепина / **К.В. Дрозд**, А.Н. Манин // Тез. докл. XI Всероссийской школы-конференции молодых ученых «Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем». – 2017. – С. 114-115.
12. **Дрозд, К.В.** Фармацевтические сокристаллы 4-аминобензойной кислоты / **К.В. Дрозд** // Тез. докл. XXI Всероссийской конференции молодых ученых-химиков (с международным участием). – 2018. – С. 93.
13. **Дрозд, К.В.** Многокомпонентные кристаллы 4-аминобензойной кислоты / **К.В. Дрозд**, А.Н. Манин // Тез. докл. Кластера конференций 2018: X Международной научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы нового поколения». – 2018. – С. 284-285.
14. **Drozd, K.V.** Drug-drug cocrystals of antituberculous 4-aminosalicylic acid / **K.V. Drozd**, A.N. Manin // Тез. докл. 4-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием МедХим-Россия 2019. – 2019. – С. 46.
15. **Drozd, K.V.** Thermodynamics of formation of 4-aminobenzoic acid multi-component crystals / **K.V. Drozd**, A.N. Manin // Тез. докл. 4-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием МедХим-Россия 2019. – 2019. – С. 177.