

УДК 547.82:543.429.23

doi: 10.26907/2542-064X.2019.2.231-244

ЯМР-СПЕКТРАЛЬНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА

А.С. Тарасов, И.З. Рахматуллин, Ю.Г. Штырлин, В.В. Клочков
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Два новых производных пиридоксина были исследованы с применением спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) высокого разрешения: одномерные методики спектроскопии ЯМР ^1H , двумерные методики ЯМР ^1H - ^1H COSY, динамический ^1H ЯМР. Выполнен анализ формы линии полученных спектров и рассчитаны значения констант скорости обмена предполагаемых конформационных процессов по компьютерной программе WinDNMR. Определены термодинамические параметры, характеризующие переходы между наблюдаемыми конформерами, и типы конформационных процессов.

Ключевые слова: пиридоксин, динамический ЯМР, конформация, медицина, химический обмен

Введение

В настоящее время активно ведутся исследования, посвященные созданию новых лекарственных соединений, в частности, на основе производных пиридоксина (витамина В6) и оценке их биологических свойств [1–5]. Неотъемлемой частью этих работ является установление механизмов взаимодействия лекарственных препаратов с их биологическими мишенями, поэтому прежде всего необходима информация о пространственной структуре исследуемых соединений и их конформационном составе, поскольку пространственное строение вещества определяет наличие у него биологической активности.

В качестве объектов исследования выбраны два вновь синтезированных производных пиридоксина (рис. 1). Эти соединения являются ключевыми коферментами, вовлеченными в метаболизм с более чем сотней ферментов, и участвующие в процессе биосинтеза аминокислот, метаболизме углеводов, жирных кислот и липидов. Среди большого числа синтезированных производных пиридоксина обнаружены вещества, проявляющие кардиопротекторную, ноотропную, антидепрессантную и другие виды активности [6–12]. Кроме того, производные пиридоксина, помимо основной эффективной биологической составляющей, активно тестируются при поиске преобразователей лазерного излучения [13]. Необходимо отметить, что они являются одними из немногих органических соединений, имеющими приложение в такой области. Однако при этом у исследователей также возникают вопросы по поводу объяснения таких необычных свойств у производных пиридоксина, для ответа на которые без исследования пространственной структуры изучаемых соединений не обойтись.

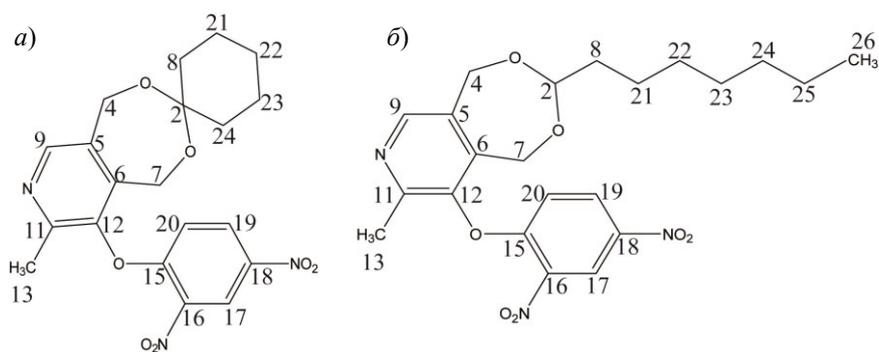


Рис. 1. Структурные формулы производных пиридоксина: а) соединение 1; б) соединение 2

Целью настоящей работы является установление пространственного строения, внутримолекулярной подвижности и основных энергетических характеристик различных конформаций производных пиридоксина в конденсированной фазе (в растворе ацетона) с помощью методов спектроскопии ЯМР.

1. Экспериментальная часть

Исследуемые соединения 1 и 2 были синтезированы по методике, описанной в патенте [14], в лаборатории отдела медицинской химии НОЦ фармацевтики КФУ. Проведена пробоподготовка образцов в пятимиллиметровых ампулах, заключающаяся в растворении исходных порошкообразных веществ в дейтерированном растворителе (ацетон- d_6). Рабочие концентрации веществ составляли 0.5 мас. %, объем раствора – 0.6 мл. Все ЯМР-эксперименты проводились на спектрометре AVANCE III-700 фирмы Bruker. Расшифровка спектров проводилась в стандартной компьютерной программе TOPSPIN. Данные ^1H ЯМР были собраны с 32k комплексных точек данных. Спектры ^1H ЯМР регистрировали с использованием 90° -ных импульсов, задержки между импульсами составляли 2 с, ширины спектра 10 м.д. и число накоплений – 100. Точность определения химических сдвигов составляла не менее 0.01 м.д. Регистрация динамических ^1H ЯМР спектров проводилась с вариацией температуры в диапазоне: $-80^\circ\text{C} \dots +30^\circ\text{C}$ с шагом 10°C . Контролирование температуры проводилось с помощью температурного датчика BVT-2000 фирмы Bruker в сочетании с блоком охлаждения BCU-05 для подачи охлажденного газа. Образец охлаждали потоком низкотемпературного газообразного азота из сосуда Дьюара с жидким азотом объемом 25 л. Эксперименты проводили без вращения образца. Анализ формы линии проводили с помощью программы WinDNMR [15]. Энергетический барьер ΔG^\ddagger конформационного процесса был рассчитан с помощью уравнения Эйринга [16]:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger, \quad (1)$$

$$\ln(k/T) = -\Delta H^\ddagger / RT + \Delta S^\ddagger / R + \ln(k_B/h), \quad (2)$$

где ΔH^\ddagger и ΔS^\ddagger – активационная энтальпия и энтропия, соответственно, T – температура в градусах Кельвина, R – универсальная газовая постоянная, k_B – константа Больцмана, h – константа Планка. Значения ΔG^\ddagger были рассчитаны для

температуры 203 К. Погрешность определения свободной энергии активации ΔG^\ddagger составляла менее 1 кДж/моль.

2. Результаты и их обсуждение

На рис. 2 и 3 представлены спектры ЯМР ^1H (700 МГц) соединений **1** и **2**, соответственно. В табл. 1 и 2 приведены значения химических сдвигов ЯМР ^1H и константы спин-спинового взаимодействия исследуемых соединений **1** и **2**.

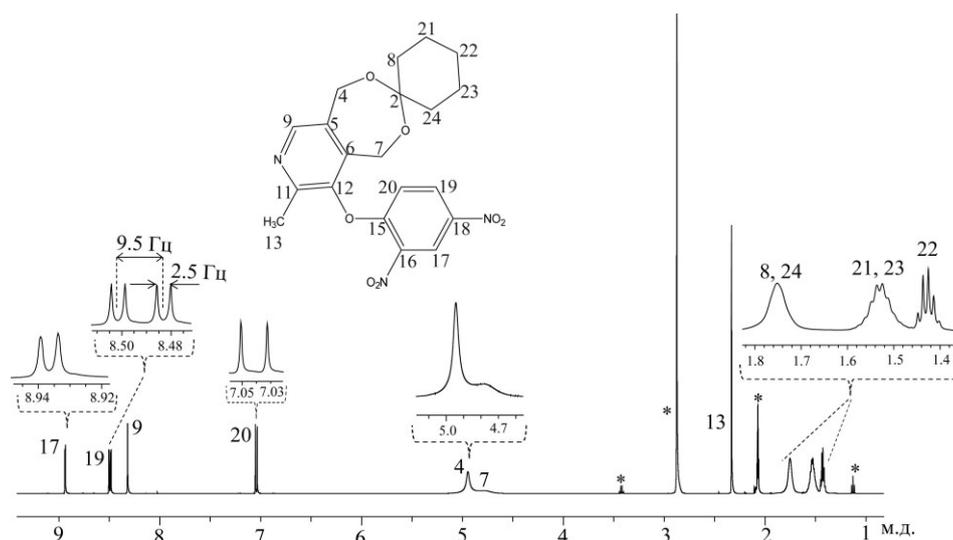


Рис. 2. ^1H ЯМР-спектр соединения **1** в растворе ацетона при температуре 300 К, * – сигналы растворителя и примесей

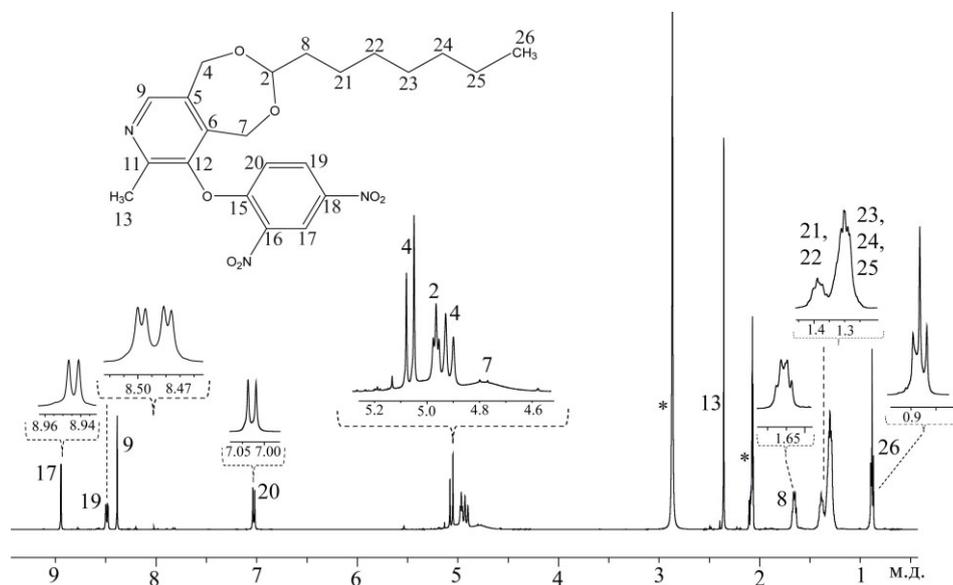


Рис. 3. ^1H ЯМР-спектр соединения **2** в растворе ацетона при температуре 300 К, * – сигналы растворителя и примесей

Табл. 1

Химические сдвиги ЯМР ^1H и константы спин-спинового взаимодействия (J) соединения **1** в растворе ацетона при температуре 300 К

Группа	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_3}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$
Номер сигнала	17	19	9	20	4	7	13	8	24	21	23	22
δ , м.д.	8.94	8.49	8.32	7.04	4.94	4.78	2.33	1.75	1.75	1.53	1.53	1.43
J , Гц	2.5 (d)	9.5; 2.5 (dd)	(s)	9.5 (d)	(s)	(b)	(s)	(b)	(b)	(b)	(b)	5.5 (p)

(s) – синглет, (d) – дублет, (dd) – дублет дублетов, (p) – квинтет, (b) – уширенный сигнал

Табл. 2

Химические сдвиги ЯМР ^1H и константы спин-спинового взаимодействия (J) соединения **2** в растворе ацетона при температуре 300 К

Группа	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_3}$
Номер сигнала	17	19	9	20	4	2	7	13
δ , м.д.	8.94	8.49	8.39	7.03	5.07	4.92	4.90	2.36
J , Гц	2.75 (d)	9.0; 2.75 (dd)	(s)	9.0 (d)	(m)	5.5 (t)	(b)	(s)
Группа	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_2}$	$\underline{\text{CH}_3}$	
Номер сигнала	8	23	24	21	22	25	26	
δ , м.д.	1.66	1.30	1.30	1.39	1.39	1.30	0.88	
J , Гц	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	7 (t)	

(s) – синглет, (d) – дублет, (dd) – дублет дублетов, (b) – уширенный сигнал, (m) – неразрешенный мультиплет, (t) – триплет

Наблюдаемые линии в спектрах ^1H ЯМР соединений **1** и **2** были соотнесены с помощью двумерной методики ЯМР COSY, по которой могут быть идентифицированы корреляции между близлежащими протонами через 1–2 химические связи [17–19].

Как видно из рис. 2, что протоны динитрофенильного фрагмента изучаемой нами молекулы 17, 19, 20 вместе с единственным протоном пиридинового основания 9 резонируют в слабых полях (в левой части спектра), а протоны метильной группы 13 и метиленовых групп циклогексанового заместителя – в сильных полях (справа). Причем сигналы 8 и 24, а также 21 и 23 оказались эквивалентными, что приводит к совпадению их химических сдвигов. Сигналы CH_2 групп 4 и 7 при комнатной температуре имеют химические сдвиги в районе 5 м.д. Необходимо также отметить, что наблюдается достаточно сильное уширение формы линии сигнала протонов CH_2 -7 уже при комнатной температуре. Это можно объяснить их более близким по сравнению с протонами CH_2 -4 пространственным расположением к предполагаемому вращению динитрофенильного фрагмента молекулы. Почти над каждым сигналом приведены их расширенные области, чтобы показать их расщепление, связанное со спин-спиновым взаимодействием.

У сигналов от одиночных протонов динитрофенильного фрагмента наблюдаются расщепления (дублет и дублет дублетов), связанные с их спин-спиновым взаимодействием друг с другом. Например, сигнал 19-го протона представлен на спектре в форме дублета дублетов, сформированного за счет спин-спинового взаимодействия с 20-м и 17-м протонами, с большей (9.5 Гц) и меньшей (2.5 Гц) константами соответственно.

Проведено исследование соединения **2** (рис. 3). Если произвести сравнение протонных спектров обоих соединений при комнатной температуре, то можно заметить несколько отличий. Первое отличие связано с наличием сигнала протона СН-2 в области сигналов 4 и 7 в соединении **2**. Он резонирует в форме триплета, поскольку рядом находится группа СН₂-8. Следующее отличие состоит в небольшом сдвиге влево метиленовых протонов заместителя в соединении **1**, который можно объяснить наличием дополнительных экранирующих кольцевых токов в циклической конфигурации заместителя по сравнению с цепочечным заместителем в соединении **2**.

Форма сигнала СН₂-7 для соединения **2** аналогично уширена по причине, о которой говорилось выше, а форма СН₂-4 – АВ-квадруплет. Известно [20], что АВ-квадруплет – это нормальная форма для такого типа протонов в семичленном цикле, если нет никаких внутримолекулярных обменных или конформационных процессов. В то же время для соединения **1** вместо АВ-квадруплета наблюдается немного уширенная синглетная линия. Отсюда можно сделать вывод, что для соединения **1** наблюдается конформационный процесс, который затрагивает семичленный цикл, состоящий во взаимопревращениях семичленного цикла твист-твист [21–25].

На рис. 4 показано, как меняется форма линии 17-го, 19-го и 20-го сигналов соединения **1** при варьировании температуры раствора с шагом 10 °С.

При низкой температуре чётко видно удвоение сигналов. Из опыта предыдущих исследований [21, 22], наблюдаемое удвоение сигналов можно объяснить наличием процесса заторможенного вращения динитрофенильного фрагмента вокруг связи С₁₂–кислород. Другими словами, две отдельно наблюдаемые линии в спектре при температуре –80 °С соответствуют двум конформерам вращения, которые удалось зафиксировать в шкале ЯМР. Отсюда можно сделать вывод, что при комнатной температуре этот процесс вращения также происходит, но время его протекания настолько короткое в шкале ЯМР, что видна лишь одна усреднённая узкая линия в случае синглетного сигнала или две узкие линии в случае дуплетного сигнала.

Интерес представляет динамика других сигналов соединения **1** (рис. 5).

Относительно сигнала метильной группы 13 наблюдается также удвоение линий. Произошло наложение и уширение сигналов метиленовых протонов заместителя, что затрудняет получение полезной информации. Однако анализ поведения сигналов 4 и 7 дает интересные результаты. В отсутствие обменных процессов формы линий данных сигналов должны быть АВ-квадруплетами, но при комнатной температуре наблюдается уширение сигналов, свидетельствующее о наличии конформационного процесса. Далее, при снижении температуры, начинает проявлять себя и второй процесс. В теории подсчет количества получившихся сигналов от этих протонов при низкой температуре должен давать 32 линии. Однако

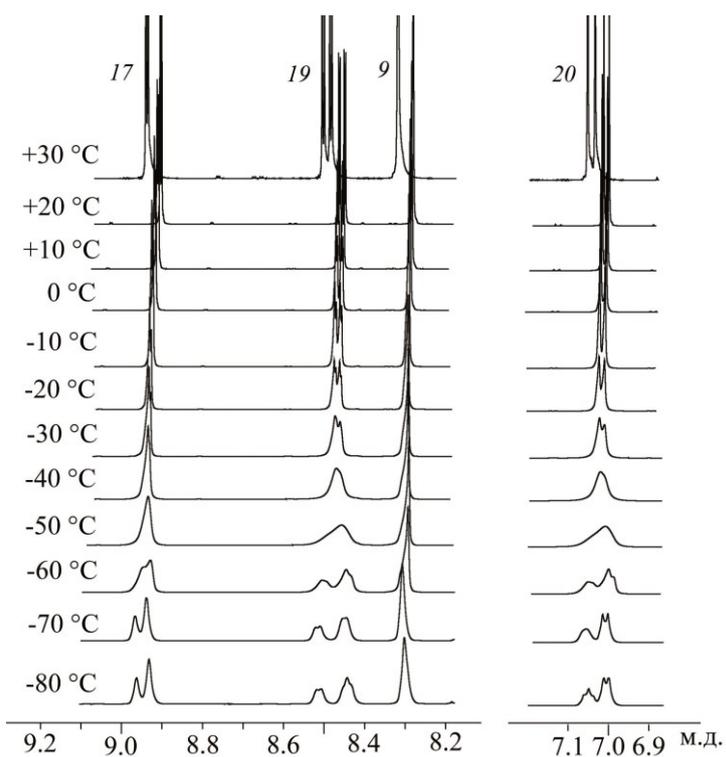


Рис. 4. Фрагменты ¹H ЯМР-спектров соединения 1 (сигналы СН – 17, 19, 9, 20) при температурах –80 °С...+30 °С

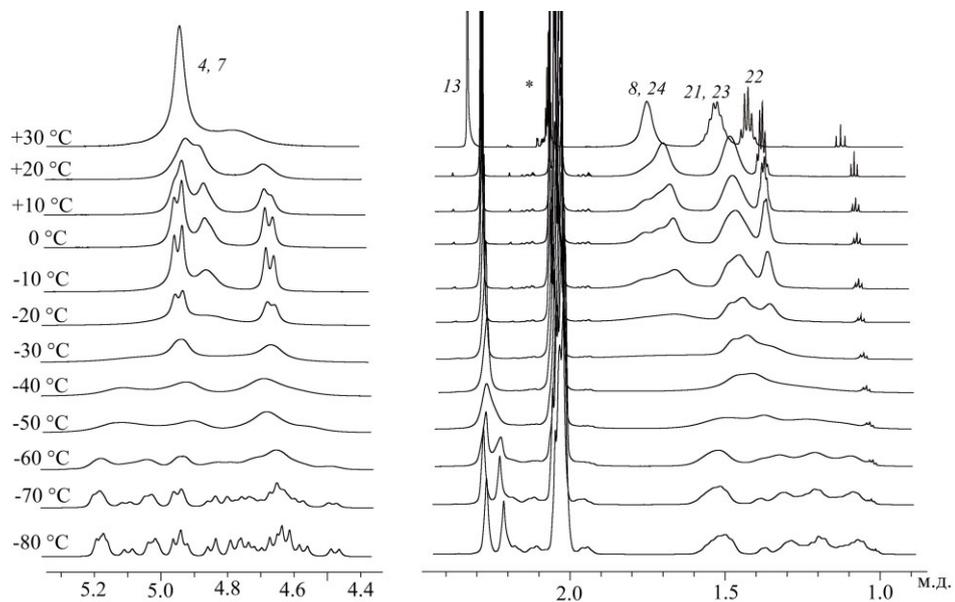


Рис. 5. Фрагменты ¹H ЯМР-спектров соединения 1 (сигналы СН₂ – 4, 7, СН₃ – 13, СН₂ – 8, 24, 21, 23, 22) при температурах –80 °С...+30 °С

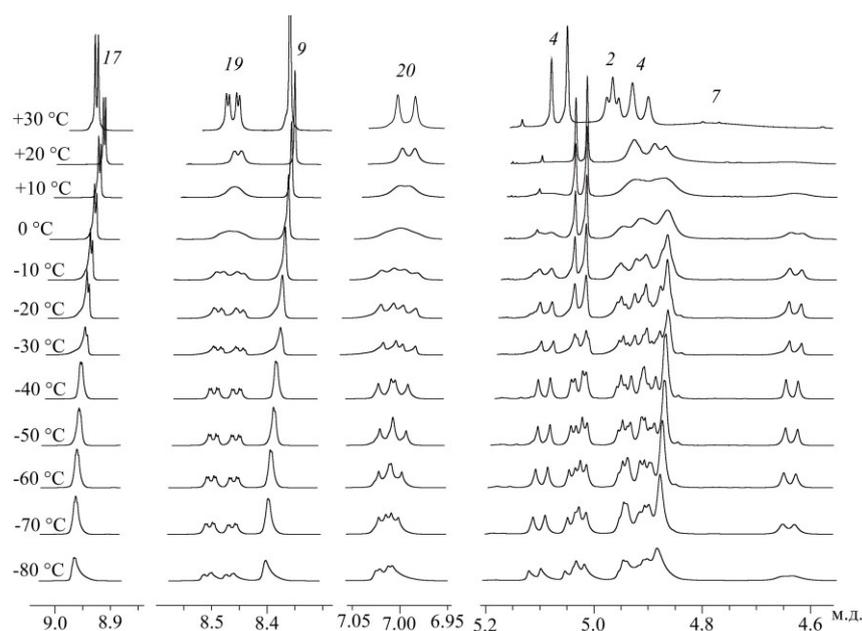


Рис. 6. Фрагменты ^1H ЯМР-спектров соединения **2** (сигналы СН – 17, 19, 9, 20, 2, СН₂ – 4, 7) при температурах $-80\text{ }^\circ\text{C}$... $+30\text{ }^\circ\text{C}$

на практике наблюдается меньшее количество из-за наложения и уширения линий. Это можно объяснить следующим образом. Если протоны СН₂ – 4, 7, являясь АВ-квадруплетами, в чистом виде дают по 4 линии, то есть в сумме 8. Далее, действие первого конформационного процесса приводит к удвоению этих 8 сигналов, то есть получается 16. А действие второго конформационного процесса, приводит ещё раз к удвоению этих 16 линий. В итоге количество линий для данной системы протонов при наличии двух одновременных конформационных процессов оказывается равным 32. Поскольку для данных молекул, кроме процесса вращения, второй процесс – это не что иное, как процесс взаимопревращения семичленного цикла твист-твист, можно прийти к выводу, что для системы протонов 4 и 7 в соединении **1** происходят одновременно оба ожидаемых вышеупомянутых конформационных процесса.

Рассмотрим динамику формы линии сигналов соединения **2** (рис. 6).

В данном случае также заметно удвоение сигналов 17, 19, 20, уширение сигнала 9 и всего лишь однократное удвоение сигналов 2, 4 и 7. Причём это удвоение происходит при более высоких температурах, чем в соединении **1** – в районе $-10\text{ }^\circ\text{C}$... $-20\text{ }^\circ\text{C}$, то есть коалесценция сигналов происходит в районе $0\text{ }^\circ\text{C}$. А дальше, при охлаждении, удвоение сигналов становится плохо заметным из-за уширения линий.

Таким образом, для соединения **2** из анализа формы линии сигналов 4, 7 не удалось увидеть проявление второго конформационного процесса – твист-твист. Максимум, что здесь может наблюдаться, – это 16 линий, то есть однократное удвоение сигналов метиленовых протонов 4 и 7. Видимо, такая конфигурация молекулы с цепочечным заместителем затрудняет осуществление второго ожидаемого конформационного процесса.

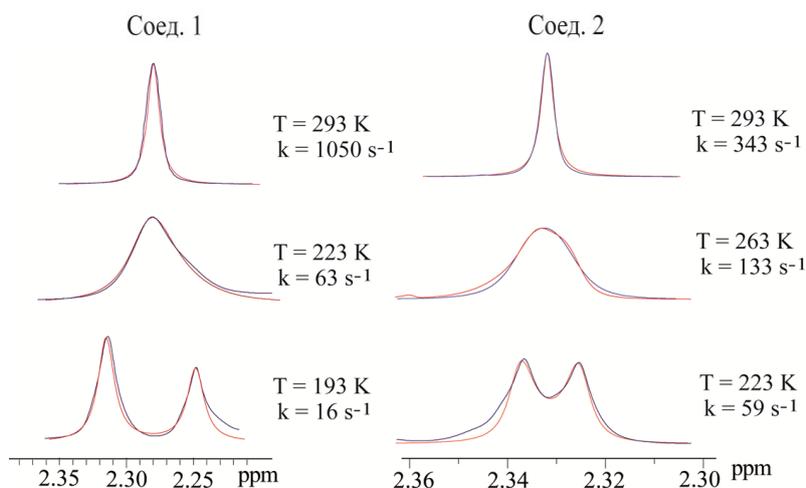


Рис. 7. Анализ формы линии сигналов $\text{CH}_3\text{-}^{13}$ соединений **1** и **2** и константы скорости обмена (k) при различных температурах

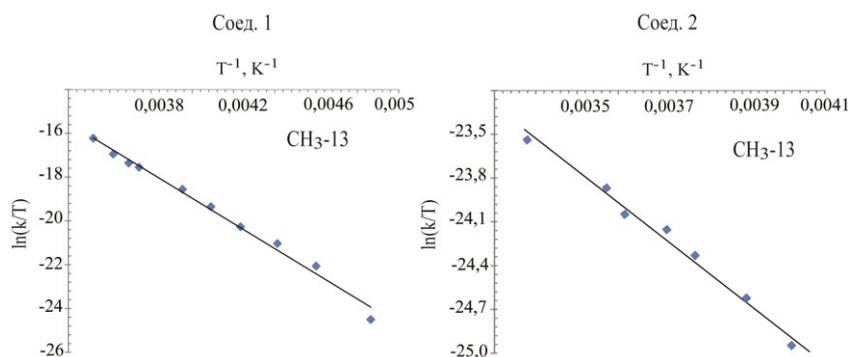


Рис. 8. Зависимость константы скорости обмена от температуры для сигналов $\text{CH}_3\text{-}^{13}$ соединений **1** и **2**

Кроме того, был выполнен анализ формы линии удваивавшихся при низких температурах сигналов. В компьютерной программе WinDNMR путём сравнения фрагментов экспериментального и симулированного спектров при различных температурах были получены константы скорости обмена наблюдаемого конформационного процесса для обоих соединений (рис. 7 – на примере сигнала метильной группы 13). Затем, проанализировав зависимость полученных констант от температуры с помощью уравнения Эйринга, были определены свободные энергии активации изучаемых конформационных процессов (рис. 8).

Таким образом, были получены энергетические барьеры ΔG^\ddagger , соответствующие процессам вращения динитрофенильных фрагментов исследуемых молекул: 42.1 (для соединения **1**) и 51.0 кДж/моль (для соединения **2**) (рис. 9).

Значение ΔG^\ddagger для соединения **2** (51.0 кДж/моль) хорошо согласуется со значениями ранее изученных ацетальных производных пиридоксина [21], причем в динамических спектрах последних не наблюдалось проявление второго процесса – твист-твист. Значение энергии соединения **1**, равное 42.1 кДж/моль, хорошо согласуется со значениями для вращения подобного динитрофенильного

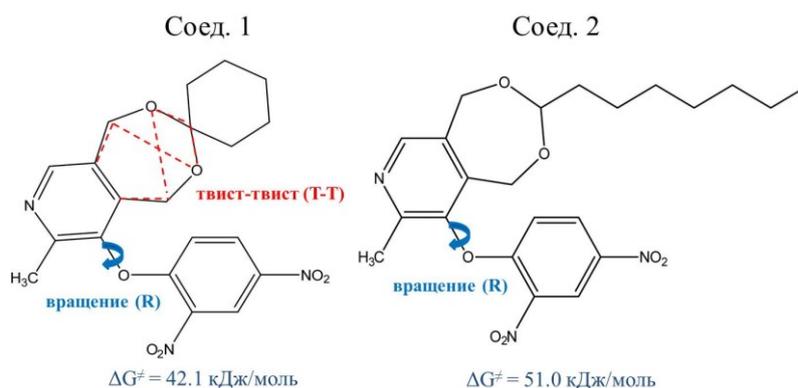


Рис. 9. Схематическое представление внутримолекулярных конформационных процессов и энергии активации процесса вращения динитрофенильного фрагмента вокруг С–О-связи в соединениях **1** и **2**

ротатора ранее изученных кетальных соединений [22]. В этом случае наблюдалось проявление и второго процесса.

Сравнение полученных результатов показывает, что динамика соседних конформационных процессов оказывает значительное влияние друг на друга. Установлено, что влияние «твист» процесса в соединении **1** приводит к снижению барьера вращения примерно на 10 кДж/моль.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 18-73-10088) и при частичной поддержке субсидией, выделенной Казанскому федеральному университету на государственное задание в сфере научной деятельности (№ 3.5283.2017/6.7).

Литература

1. Shtyrlin N.V., Lodochnikova O.A., Shtyrlin Y.G. Regioisomeric oximes and thiosemicarbazones derived from 6-substituted pyridoxines // *Mendeleev Commun.* – 2012. – V. 22, No 3. – P. 169–170. – doi: 10.1016/j.mencom.2012.05.021.
2. Pugachev M.V., Shtyrlin N.V., Sysoeva L.P., Nikitina E.V., Abdullin T.I., Iksanova A.G., Ilaeva A.A., Musin R.Z., Berdnikov E.A., Shtyrlin Y.G. Synthesis and antibacterial activity of novel phosphonium salts on the basis of pyridoxine // *Bioorg. Med. Chem.* – 2013. – V. 21, No 14. – P. 4388–4395. – doi: 10.1016/j.bmc.2013.04.051.
3. Ziganshin A.U., Kalinina O.S., Strel'nik A.D., Garipov M.R., Koshkin S.A., Ziganshina L.E., Shtyrlin Y.G. Antagonistic properties of new non-phosphorylated derivatives of nitrogen-containing heterocycles towards P2 receptors // *Int. J. Pharmacol.* – 2015. – V. 11, No 4. – P. 400–404. – doi: 10.3923/iup.2015.400.404.
4. Kayumov A.R., Nureeva A.A., Trizna E.Y., Gazizova G.R., Bogachev M.I., Shtyrlin N.V., Pugachev M.V., Sapozhnikov S.V., Shtyrlin Y.G. New derivatives of pyridoxine exhibit high antibacterial activity against biofilm-embedded staphylococcus cells // *BioMed. Res. Int.* – 2015. – V. 2015. – Art. 890968. – P. 1–10. – doi: 10.1155/2015/890968.
5. Strel'nik A.D., Petukhov A.S., Zueva I.V., Zobov V.V., Petrov K.A., Nikolsky E.E., Balaikin K.V., Bachurin S.O., Shtyrlin Y.G. Novel potent pyridoxine-based inhibitors of AChE and BChE, structural analogs of pyridostigmine, with improved in vivo safety

- profile // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2016. – V. 26, No 16. – P. 4092–4094. – doi: 10.1016/j.bmcl.2016.06.070.
6. *Wilson R.G., Davis R.E.* Clinical chemistry of vitamin B6 // *Adv. Clin. Chem.* – 1983. – V. 23. – P. 1–68. – doi: 10.1016/s0065-2423(08)60397-2.
 7. *Kelly P.J., Shih V.E., Kistler J.P., Barron M., Lee H., Mandell R., Karen L.* Low vitamin B6 but not homocyst(e)ine is associated with increased risk of stroke and transient ischemic attack in the era of folic acid grain fortification // *Stroke.* – 2003. – V. 34, No 6. – P. e51–e54. – doi: 10.1161/01.STR.0000071109.23410.AB.
 8. *Robinson K., Arheart K., Refsum H., Brattstrum L., Boers G., Ueland P., Rubba P., Palma-Reis R., Meleady R., Daly L., Witteman J., Graham I.* Low circulating folate and vitamin B12 concentrations // *Circulation.* – 1998. – V. 97, No 5. – P. 437–443. – doi: 10.1161/01.cir.97.5.437.
 9. *Wilmink A.B., Welch A.A., Quick C.R., Burns P.J., Hubbard C.S., Bradbury A.W., Day N.E.* Dietary folate and vitamin B12 are independent predictors of peripheral arterial occlusive disease // *J. Vasc. Surg.* – 2004. – V. 39, No 3. – P. 513–516. – doi: 10.1016/j.jvs.2003.09.046.
 10. *Петухов А.С.* Синтез, пространственная структура и свойства семичленных ацеталей пиридоксина: Дис. ... канд. хим. наук. – Казань, 2004. – 178 с.
 11. *Petrov K.A., Malomouzh A.I., Kovyazina I. V., Krejci E., Nikitashina A.D., Proskurina S.E., Zobov V.V., Nikolsky E.E.* Regulation of acetylcholinesterase activity by nitric oxide in rat neuromuscular junction via N-methyl-D-aspartate receptor activation // *Eur. J. Neurosci.* – 2013. – V. 37, No 2. – P. 181–189. – doi: 10.1111/ejn.12029.
 12. *Nikitashina A.D., Petrov K.A., Zobov V.V., Reznik V.S., Nikol'skii E.E.* Specific inhibitory effects of the alkylammonium derivative 6-methyluracil on acetylcholinesterase of smooth and striated muscles in rats // *Dokl. Biol. Sci.* – 2013. – V. 449, No 1. – P. 82–84. – doi: 10.1134/S0012496613020099.
 13. *Strel'nik A.D., Garipov M.R., Petukhov A.S., Shtyrlin N.V., Lodochnikova O.A., Litvinov I.A., Naumov A.K., Morozov O.A., Klimovitskii A.E., Shtyrlin Yu.G.* Structural and spectral characterization of novel non-centrosymmetric 2,4-dinitrobenzene derivative // *Spectrochim. Acta, Part A* – 2014. – V. 117. – P. 793–797. – doi: 10.1016/j.saa.2013.09.092.
 14. Пат. № 2501801 РФ. Производные пиридоксина с нелинейными оптическими свойствами / Ю.Г. Штырлин, А.Д. Стрельник, А.С. Петухов, М.Р. Гарипов, Н.В. Штырлин, О.А. Лодочникова, И.А. Литвинов, О.А. Морозов, А.В. Ловчев. – № 2012146034/04; заявл. 19.10.2012; опубл. 20.12.13, Бюл. № 35. – 11 с.
 15. *Hans J.* Simulating NMR Spectra with WINDNMR-Pro. – URL: <https://www.chem.wisc.edu/areas/reich/plt/windnmr.htm>.
 16. *Sidney W., Benson S.* The Foundations of Chemical Kinetics. – N. Y.: McGraw-Hill, 1960. – xvii+703 p.
 17. *Khodov I.A., Efimov S.V., Klochkov V.V., Alper G.A., Batista de Carvalho L.A.E.* Determination of preferred conformations of ibuprofen in chloroform by 2D NOE spectroscopy // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2014. – V. 65. – P. 65–73. – doi: 10.1016/j.ejps.2014.08.005.
 18. *Khodov I.A., Nikiforov M.Yu., Alper G.A., Blokhin D.S., Efimov S.V., Klochkov V.V., Georgi N.* Spatial structure of felodipine dissolved in DMSO by 1D NOE and 2D NOESY NMR spectroscopy // *J. Mol. Struct.* – 2013. – V. 1035. – P. 358–362. – doi: 10.1016/j.molstruc.2012.11.040.
 19. *Blokhin D.S., Efimov S.V., Klochkov A.V., Yulmetov A.R., Filippov A.V., Antzutkin O.N., Aganov A.V., Klochkov V.V.* Spatial structure of the decapeptide Val-Ile-Lys-Lys-Ser-Thr-

- Ala-Leu-Leu-Gly in water and in a complex with sodium dodecyl sulfate micelles // *Appl. Magn. Reson.* – 2011. – V. 41, Nos 2–4. – P. 267–282. – doi: 10.1007/s00723-011-0257-x.
20. *Aganov A.V., Klochkov V.V., Samitov Yu.Yu.* New aspects of NMR application for investigations of chemical-exchange processes // *Russ. Chem. Rev.* – 1985. – V. 54, No 10. – P. 931–947.
21. *Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V.* Dynamic NMR study of cyclic derivatives of pyridoxine // *Magn. Reson. Chem.* – 2014. – V. 52. – P. 769–778. – doi: 10.1002/mrc.4123.
22. *Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V.* Dynamic NMR study of dinitrophenyl derivatives of seven-membered cyclic ketals of pyridoxine // *Magn. Reson. Chem.* – 2015. – V. 53. – P. 805–812. – doi: 10.1002/mrc.4251.
23. *Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V.* ^1H NMR characterization of two new pyridoxine derivatives // *BioNanoScience* – 2016. – V. 6, No 3. – P. 243–245. – doi: 10.1007/s12668-016-0214-0.
24. *Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Balandina A.A., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Galiullina A.S., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V.* Stereodynamics of some pyridoxine derivatives // *Magn. Reson. Chem.* – 2017. – V. 55, No 4. – P. 304–311. – doi: 10.1002/mrc.4528.
25. *Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Balandina A.A., Karataeva F.K., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V.* Spatial structure and conformational mobility of seven-membered cyclic acetals and ketals containing pyridoxine moiety in solution by NMR methods // *BioNanoScience*. – 2018. – V. 8, No 4. – P. 963–970. – doi: 10.1007/s12668-018-0562-z.

Поступила в редакцию
22.02.19

Тарасов Артём Сергеевич, студент Института физики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: tarasov_as2010@mail.ru

Рахматуллин Ильфат Зуфарович, кандидат физико-математических наук, ассистент кафедры медицинской физики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: IZRahmatullin@kpfu.ru

Штырлин Юрий Григорьевич, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник НОЦ фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: Yurii.Shtyrlin@kpfu.ru

Клочков Владимир Васильевич, доктор химических наук, профессор кафедры медицинской физики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: Vladimir.Klochkov@kpfu.ru

doi: 10.26907/2542-064X.2019.2.231-244

NMR-Spectral and Structural Characteristics of New Pyridoxine Derivatives*A.S. Tarasov*^{*}, *I.Z. Rakhmatullin*^{**}, *Yu.G. Shtyrlin*^{***}, *V.V. Klochkov*^{****}*Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*E-mail: ^{*}*tarasov_as2010@mail.ru*, ^{**}*IZRahmatullin@kpfu.ru@mail.ru*,
^{***}*Yurii.Shtyrlin@kpfu.ru*, ^{****}*Vladimir.Klochkov@kpfu.ru*

Received February 22, 2019

Abstract

The relevance of the study is determined by the fact that in the last decade pyridoxine derivatives have been widely used for the synthesis of molecules with important biological and physical properties. However, synthesis of the compounds with desirable biochemical or physical properties often requires information about their spatial structure and conformational mobility. NMR spectroscopy is a powerful tool for conformational analysis of biologically important samples, such as pyridoxine derivatives, in solution.

Two new pyridoxine derivatives were studied using high-resolution nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy: one-dimensional ¹H NMR spectroscopy, two-dimensional ¹H-¹H COSY NMR techniques, dynamic ¹H NMR. The lineshape analysis of obtained spectra was carried out and the values of rate constants of the exchange of assumed conformational processes were calculated in the WinDNMR computer program. The thermodynamic parameters characterizing the transitions between the observed conformers and the types of conformational processes are determined.

Based on the results of the study, the following conclusions were made. The studied compounds are involved into two types of conformational exchange processes: restricted rotations of the dinitrophenyl fragment around the C₁₂-O bond and twist-twist interconversions of the seven-membered ring (for compound 1). Comparison of the obtained results shows that the dynamics of neighboring conformational processes have a significant effect on each other. It was established that the influence of the “twist” process in compound 1 leads to a decrease in the rotation barrier by 10 kJ/mol. This observation can be explained by the increased steric hindrance of the substituents raising the energy of the ground state, and thus lowering the activation energy barrier.

Keywords: pyridoxine, dynamic NMR, conformation, medicine, chemical exchange

Acknowledgments. The study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 18-73-10088) and funded in part by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities (project no. 3.5283.2017/6.7).

Figure Captions

- Fig. 1. The structural formulas of pyridoxine derivatives: *a*) compound 1; *b*) compound 2.
- Fig. 2. ¹H NMR spectrum of compound 1 in acetone solution at a temperature of 300 K, * – signals from the solvent and impurities.
- Fig. 3. ¹H NMR spectrum of compound 2 in an acetone solution at a temperature of 300 K, * – signals from the solvent and impurities.
- Fig. 4. The fragments of ¹H NMR spectra of compound 1 (signals CH – 17, 19, 9, 20) at temperatures of –80 °C...+30 °C.
- Fig. 5. The fragments of ¹H NMR spectra of compound 1 (signals CH₂ – 4, 7, CH₃-13, CH₂ – 8, 24, 21, 23, 22) at temperatures of –80 °C...+30 °C.
- Fig. 6. The fragments of ¹H NMR spectra of compound 2 (signals CH –17, 19, 9, 20, 2, CH₂ – 4, 7) at temperatures of –80 °C...+30 °C.

- Fig. 7. The lineshape analysis of the signals CH₃-13 of compounds **1** and **2** and exchange rate constants (*k*) at various temperatures.
- Fig. 8. The dependences of exchange rate constants on temperatures for signals CH₃-13 of compounds **1** and **2**.
- Fig. 9. Schematic representation of the intramolecular conformational processes and the activation energy of the process of rotation of the dinitrophenyl fragment around the C–O bond in compounds **1** and **2**.

References

1. Shtyrlin N.V., Lodochnikova O.A., Shtyrlin Y.G. Regioisomeric oximes and thiosemicarbazones derived from 6-substituted pyridoxines. *Mendeleev Commun.*, 2012, vol. 22, no. 3, pp. 169–170. doi: 10.1016/j.mencom.2012.05.021.
2. Pugachev M.V., Shtyrlin N.V., Sysoeva L.P., Nikitina E.V., Abdullin T.I., Iksanova A.G., Ilaeva A.A., Musin R.Z., Berdnikov E.A., Shtyrlin Y.G. Synthesis and antibacterial activity of novel phosphonium salts on the basis of pyridoxine. *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, vol. 21, no. 14, pp. 4388–4395. doi: 10.1016/j.bmc.2013.04.051.
3. Ziganshin A.U., Kalinina O.S., Strel'nik A.D., Garipov M.R., Koshkin S.A., Ziganshina L.E., Shtyrlin Y.G. Antagonistic properties of new non-phosphorylated derivatives of nitrogen-containing heterocycles towards P2 receptors. *Int. J. Pharmacol.*, 2015, vol. 11, no. 4, pp. 400–404. doi: 10.3923/iup.2015.400.404.
4. Kayumov A.R., Nureeva A.A., Trizna E.Y., Gazizova G.R., Bogachev M.I., Shtyrlin N.V., Pugachev M.V., Sapozhnikov S.V., Shtyrlin Y.G. New derivatives of pyridoxine exhibit high antibacterial activity against biofilm-embedded staphylococcus cells. *BioMed. Res. Int.*, 2015, vol. 2015, art. 890968, pp. 1–10. doi: 10.1155/2015/890968.
5. Strel'nik A.D., Petukhov A.S., Zueva I.V., Zobov V.V., Petrov K.A., Nikolsky E.E., Balakin K.V., Bachurin S.O., Shtyrlin Y.G. Novel potent pyridoxine-based inhibitors of AChE and BChE, structural analogs of pyridostigmine, with improved in vivo safety profile. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2016, vol. 26, no. 16, pp. 4092–4094. doi: 10.1016/j.bmcl.2016.06.070.
6. Wilson R.G., Davis R.E. Clinical chemistry of vitamin B6. *Adv. Clin. Chem.*, 1983, vol. 23, pp. 1–68. doi: 10.1016/s0065-2423(08)60397-2.
7. Kelly P.J., Shih V.E., Kistler J.P., Barron M., Lee H., Mandell R., Karen L. Low vitamin B6 but not homocyst(e)ine is associated with increased risk of stroke and transient ischemic attack in the era of folic acid grain fortification. *Stroke*, 2003, vol. 34, no. 6, pp. e51–e54. doi: 10.1161/01.STR.0000071109.23410.AB.
8. Robinson K., Arheart K., Refsum H., Brattstrum L., Boers G., Ueland P., Rubba P., Palma-Reis R., Meleady R., Daly L., Witteman J., Graham I. Low circulating folate and vitamin B12 concentrations. *Circulation*, 1998, vol. 97, no. 5, pp. 437–443. doi: 10.1161/01.cir.97.5.437.
9. Wilkink A.B., Welch A.A., Quick C.R., Burns P.J., Hubbard C.S., Bradbury A.W., Day N.E. Dietary folate and vitamin B12 are independent predictors of peripheral arterial occlusive disease. *J. Vasc. Surg.*, 2004, vol. 39, no. 3, pp. 513–516. doi: 10.1016/j.jvs.2003.09.046.
10. Petukhov A.S. Synthesis, spatial structure, and properties of seven-membered pyridoxine acetals. *Cand. Chem. Sci. Diss.* Kazan, 2004. 178 p. (In Russian)
11. Petrov K.A., Malomouzh A.I., Kovyazina I. V., Krejci E., Nikitashina A.D., Proskurina S.E., Zobov V.V., Nikolsky E.E. Regulation of acetylcholinesterase activity by nitric oxide in rat neuromuscular junction via N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Eur. J. Neurosci.*, 2013, vol. 37, no. 2, pp. 181–189. doi: 10.1111/ejn.12029.
12. Nikitashina A.D., Petrov K.A., Zobov V.V., Reznik V.S., Nikol'skii E.E. Specific inhibitory effects of the alkylammonium derivative 6-methyluracil on acetylcholinesterase of smooth and striated muscles in rats. *Dokl. Biol. Sci.*, 2013, vol. 449, no. 1, pp. 82–84. doi: 10.1134/S0012496613020099.
13. Strel'nik A.D., Garipov M.R., Petukhov A.S., Shtyrlin N.V., Lodochnikova O.A., Litvinov I.A., Naumov A.K., Morozov O.A., Klimovitskii A.E., Shtyrlin Yu.G. Structural and spectral characterization of novel non-centrosymmetric 2,4-dinitrobenzene derivative. *Spectrochim. Acta, Part A*, 2014, vol. 117, pp. 793–797. doi: 10.1016/j.saa.2013.09.092.

14. Shtyrlin Yu.G., Strel'nik A.D., Petukhov A.S., Garipov M.R., Shtyrlin N.V., Lodochnikova O.A., Litvinov I.A., Morozov O.A., Lovchev A.V. Pyridoxine derivatives with nonlinear optical properties. Patent RF no. 2501801, 2013. (In Russian)
15. Hans J. Simulating NMR Spectra with WINDNMR-Pro. Available at: <https://www.chem.wisc.edu/areas/reich/plt/windnmr.htm>.
16. Sidney W., Benson S. *The Foundations of Chemical Kinetics*. New York, McGraw-Hill, 1960. xvii+703 p.
17. Khodov I.A., Efimov S.V., Klochkov V.V., Alper G.A., Batista de Carvalho L.A.E. Determination of preferred conformations of ibuprofen in chloroform by 2D NOE spectroscopy. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2014, vol. 65, pp. 65–73. doi: 10.1016/j.ejps.2014.08.005.
18. Khodov I.A., Nikiforov M.Yu., Alper G.A., Blokhin D.S., Efimov S.V., Klochkov V.V., Georgi N. Spatial structure of felodipine dissolved in DMSO by 1-D NOE and 2-D NOESY NMR spectroscopy. *J. Mol. Struct.*, 2013, vol. 1035, pp. 358–362. doi: 10.1016/j.molstruc.2012.11.040.
19. Blokhin D.S., Efimov S.V., Klochkov A.V., Yulmetov A.R., Filippov A.V., Antzutkin O.N., Aganov A.V., Klochkov V.V. Spatial structure of the decapeptide Val-Ile-Lys-Lys-Ser-Thr-Ala-Leu-Leu-Gly in water and in a complex with sodium dodecyl sulfate micelles. *App. Magn. Reson.*, 2011, vol. 41, nos. 2–4, pp. 267–282. doi: 10.1007/s00723-011-0257-x.
20. Aganov A.V., Klochkov V.V., Samitov Y.Y. New aspects of NMR application for investigations of chemical-exchange processes. *Russ. Chem. Rev.*, 1985, vol. 54, no. 10, pp. 931–947.
21. Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V. Dynamic NMR study of cyclic derivatives of pyridoxine. *Magn. Reson. Chem.*, 2014, vol. 52, pp. 769–778. doi: 10.1002/mrc.4123.
22. Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V. Dynamic NMR study of dinitrophenyl derivatives of seven-membered cyclic ketals of pyridoxine. *Magn. Reson. Chem.*, 2015, vol. 53, pp. 805–812. doi: 10.1002/mrc.4251.
23. Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V. ¹H NMR characterization of two new pyridoxine derivatives. *BioNanoScience*, 2016, vol. 6, no. 3, pp. P. 243–245. doi: 10.1007/s12668-016-0214-0.
24. Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Balandina A.A., Garipov M.R., Strel'nik A.D., Galiullina A.S., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V. Stereodynamics of some pyridoxine derivatives. *Magn. Reson. Chem.*, 2017, vol. 55, no. 4, pp. 304–311. doi: 10.1002/mrc.4528.
25. Rakhmatullin I.Z., Galiullina L.F., Balandina A.A., Karataeva F.K., Shtyrlin Y.G., Klochkov V.V. Spatial structure and conformational mobility of seven-membered cyclic acetals and ketals containing pyridoxine moiety in solution by NMR methods. *BioNanoScience*, 2018, vol. 8, no. 4, pp. 963–970. doi: 10.1007/s12668-018-0562-z.

Для цитирования: Тарасов А.С., Рахматуллин И.З., Штырлин Ю.Г., Клочков В.В. ЯМР-спектральные и структурные характеристики новых производных пиридоксина // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2019. – Т. 161, кн. 2. – С. 231–244. – doi: 10.26907/2542-064X.2019.2.231-244.

For citation: Tarasov A.S., Rakhmatullin I.Z., Shtyrlin Yu.G., Klochkov V.V. NMR-spectral and structural characteristics of new pyridoxine derivatives. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2019, vol. 161, no. 2, pp. 231–244. doi: 10.26907/2542-064X.2019.2.231-244. (In Russian)