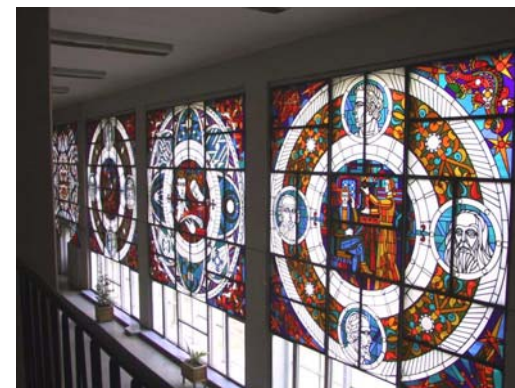




Е.В. Болдырева

Исследование молекулярных кристаллов при высоких давлениях

*Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН,
Научно-Образовательный Центр «Молекулярный Дизайн и
Экологически Безопасные Технологии», Новосибирский
государственный университет, boldyrev@nsu.ru*



Общий план изложения:

- Высокие давления – общее введение
- Исследования при высоких давлениях – как это делается?
- Для чего изучают лекарственные препараты под давлением?
- Биоимитационные системы и давление
- Что дальше?

Общий план изложения:

- Высокие давления – общее введение
- Исследования при высоких давлениях – как это делается?
- Для чего изучают лекарственные препараты под давлением?
- Биоимитационные системы и давление
- Что дальше?

Высокие давления в природе:

Дно океана	11 км	0.3 ГПа
Земная кора	0-25 км	0.7 ГПа
Мантия	25-2890 км	0.7 ГПа – 160 ГПа
Ядро	2890 – 6370 км	160 GPa – 480 ГПа

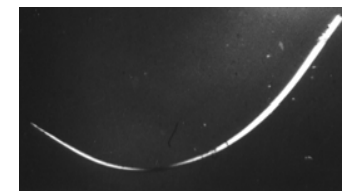
10000 атм \approx 1 ГПа

Геохимия, физика, минералогия, биология:

- Моделирование геохимических процессов
- Изучение свойств веществ и материалов в экстремальных условиях
- Изучение организмов, живущих при высоких давлениях (в глубинах океана, в недрах Земли (пъезофилов))
- Проблемы происхождения жизни

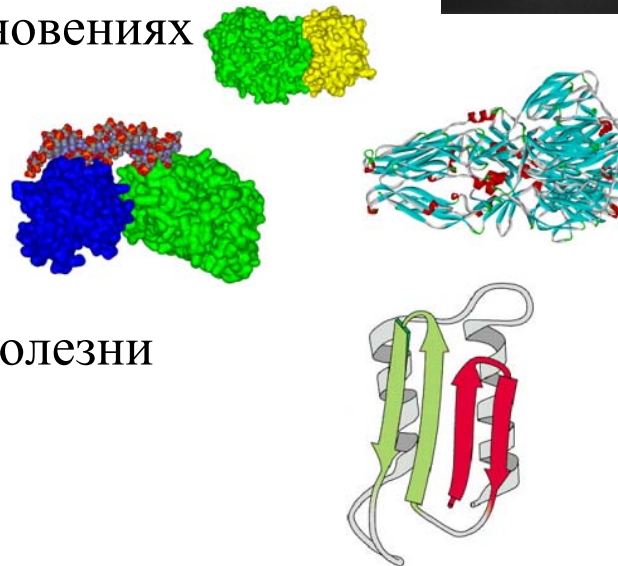
Высокие давления («неожиданные» области):

- Реакции в кристаллах (реакция сама создает механические напряжения)



- Биохимические процессы:

- денатурация макромолекул при столкновениях
- трансмембранный перенос
- взаимодействие субстрат-лиганд
- сокращения мышц
- генетические дефекты, генетические болезни



Изменения конформации биополимеров

Высокие давления (Прикладные аспекты):

- **Устройства и материалы** могут подвергаться механическим нагрузкам **при использовании**
- Давление – альтернатива тепловой обработке при дезактивации энзимов, вирусов, бактерий, спор, токсинов в **медицине и пищевой промышленности**
- Приложения в **биотехнологии**
- **Синтез новых материалов**, в том числе – аналогов природных
- Получение новых **лекарственных форм**
- Контроль за процессами при производстве **лекарственных форм**

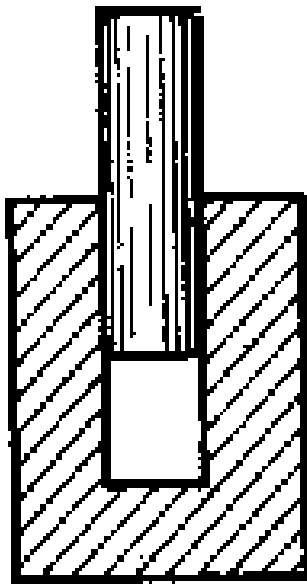
Общий план изложения:

- Высокие давления – общее введение
- Исследования при высоких давлениях – как это делается?
- Для чего изучают лекарственные препараты под давлением?
- Биоимитационные системы и давление
- Что дальше?

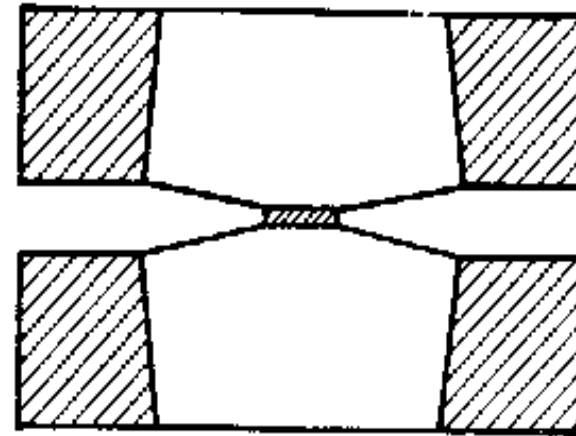
Создание гидростатического давления:

$$P = RT(1/V + A/V^2 + B/V^3 + \dots)$$

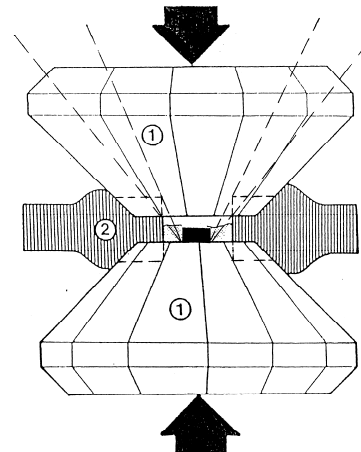
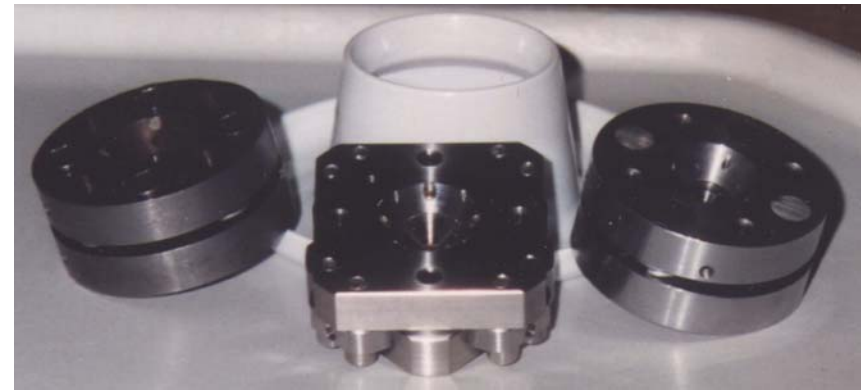
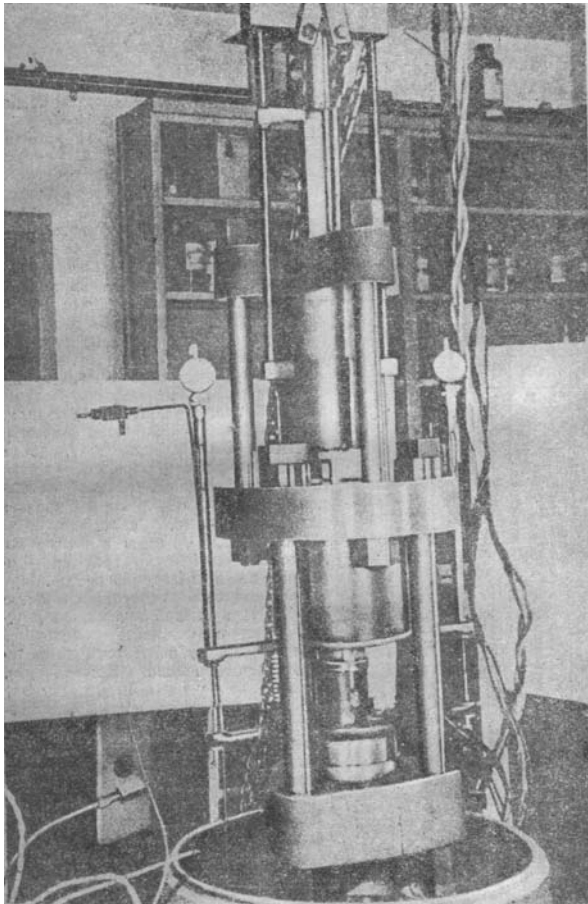
- Поршень-цилиндр



- Наковальни



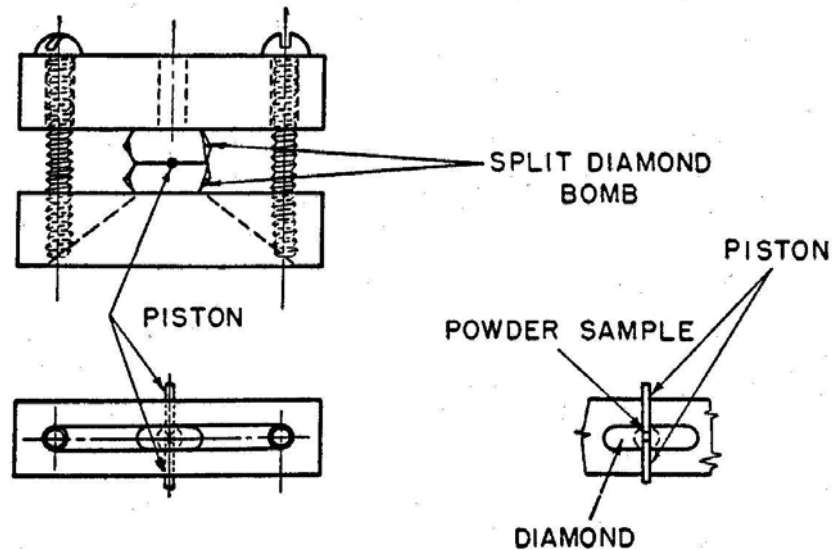
Создание высоких давлений и исследования структуры и спектров *in situ*



Давления:
До 5 Мбар
(5 000 000 атм = 500 ГПа)

Температуры:
От 5 К до to 3000 К

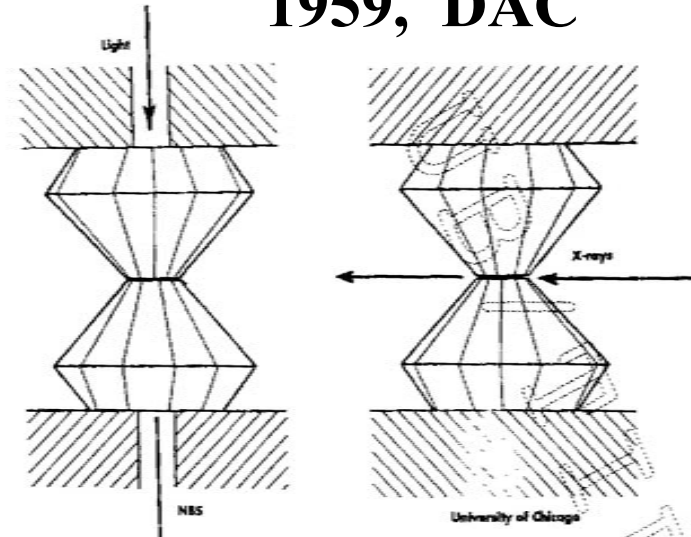
Первые модели портативных ячеек



1949, "split-diamond bomb"
Lawson & Ting-Yuan Tang

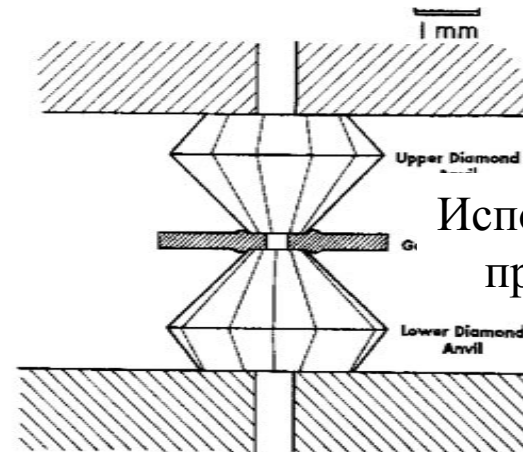
алмаз = цилиндр,
вольфрам = поршень

1959, DAC

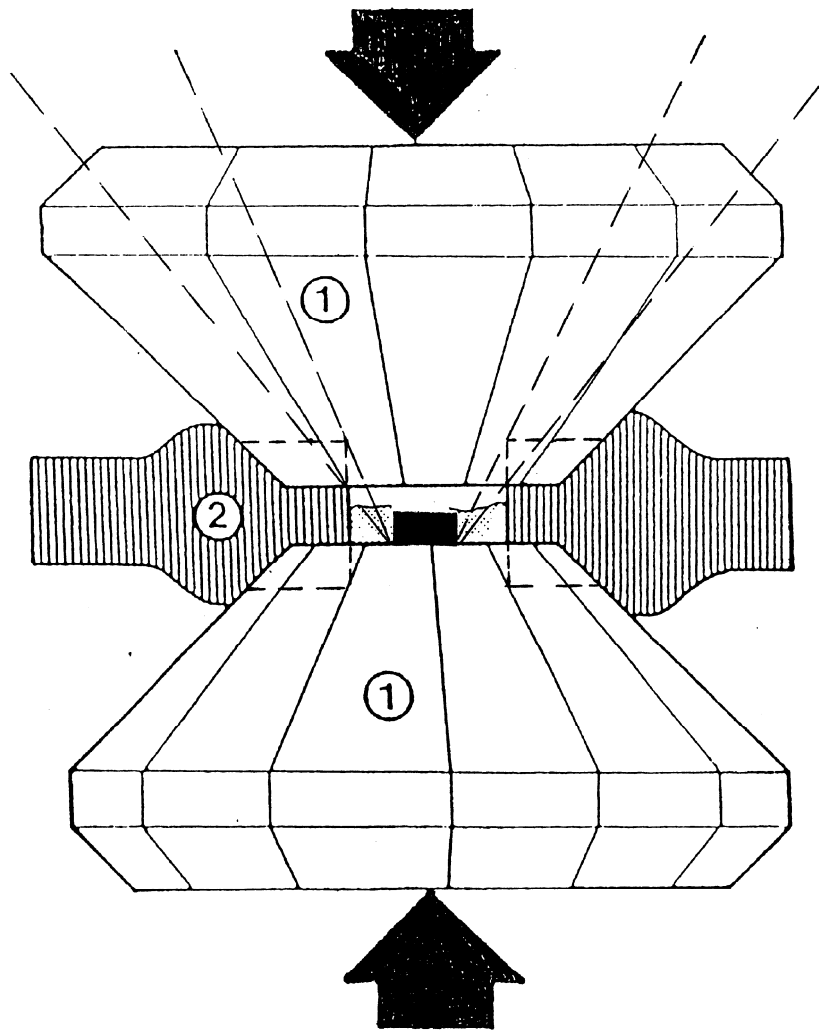


NBS

University
of Chicago



Использование
прокладки



Давления:

До 5 Мбар
(5 000 000 атм = 500 ГПа)

Температуры:

От 5 К до 3000 К

(0°C = 273 К)

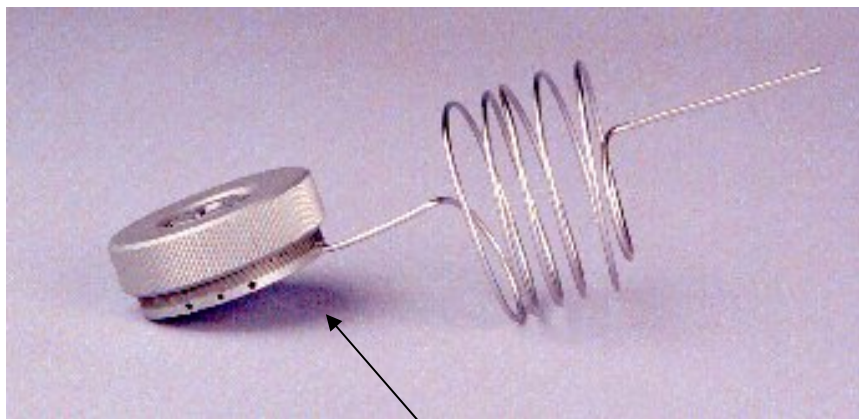
- Без газа или жидкости невозможно создать гидростатические условия нагружения;
- Различные жидкости и газы – разные пределы гидростатичности



Возможные эксперименты при высоких давлениях *in situ*:

- ИК- и КР- спектроскопия
- Оптическая спектроскопия
- Микроскопия
- Дифракция рентгеновских лучей или нейтронов
- Неупругое рассеяние нейтронов
- ЯМР-спектроскопия
- Электрофизические измерения

Примеры коммерческих ячеек

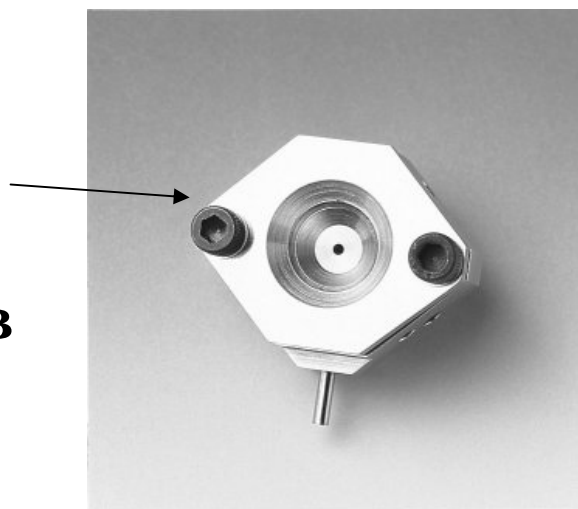


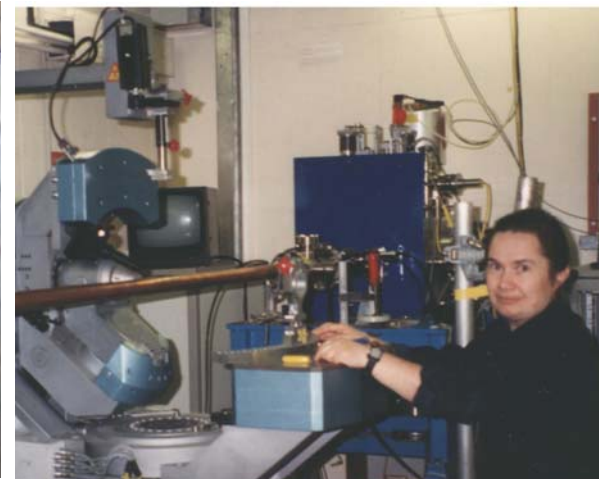
Для ИК- и КР-микроскопии
(толщина 18 мм)



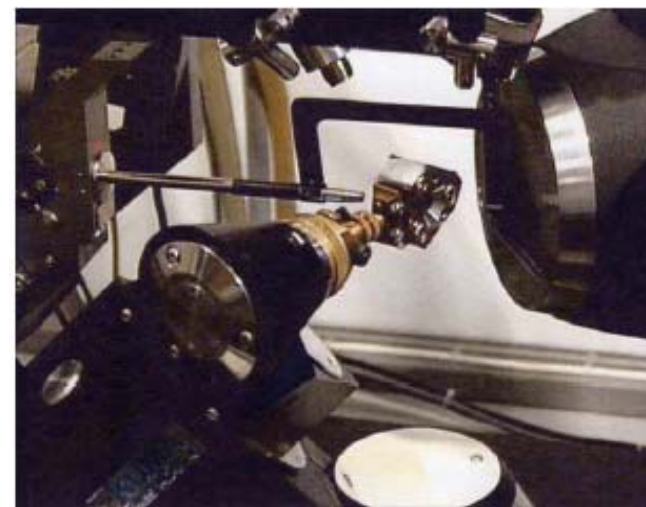
Высоко-температурная
 $P < 50$ ГПа
 $T < 700$ °С

Криогенная,
для изучения
магнитных свойств





Гренобль
**Работы в лаборатории и на крупных
международных станциях**



Новосибирск

Измерение давления

Давление = сила / площадь

Единицы измерения:

$$1 \text{ Н/м}^2 = 1 \text{ Па} = 10^{-5} \text{ бар}$$

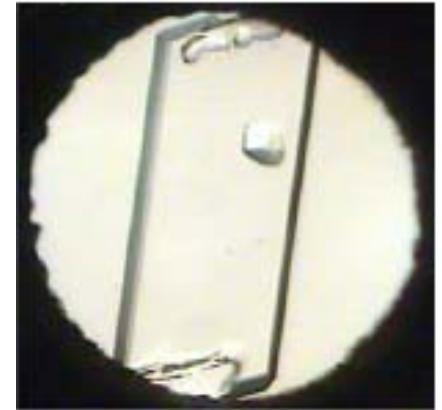
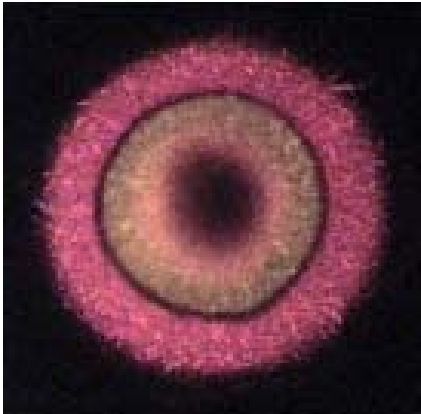
$$1 \text{ бар} = 10^6 \text{ дин / см}^2 = 0.987 \text{ атм.}$$

$$1 \text{ атм.} \approx 10^{-4} \text{ ГПа} \quad (1 \text{ ГПа} = 10^9 \text{ Па})$$

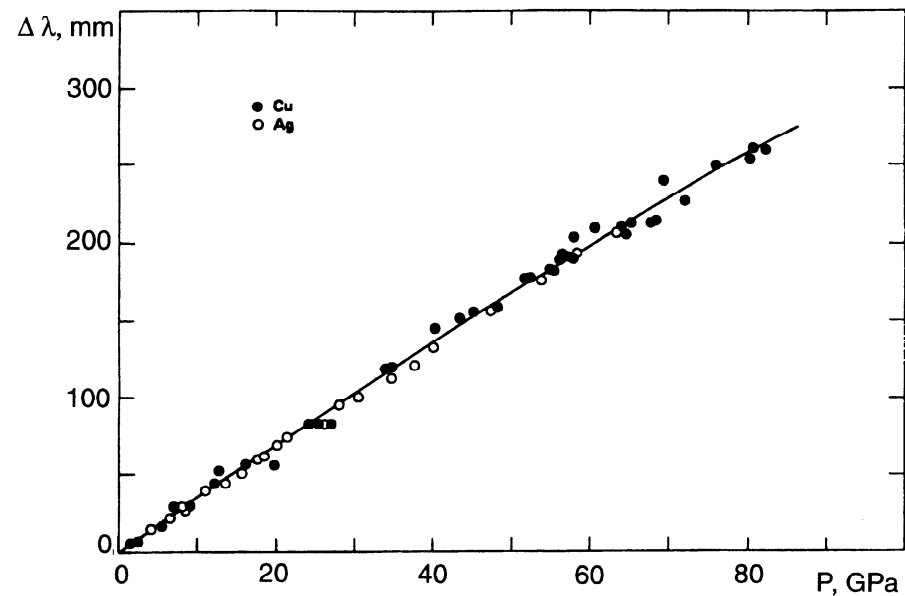
$$1 \text{ кбар} \approx 1000 \text{ атм.} \approx 0.1 \text{ ГПа}$$

Абсолютные значения – манометры.

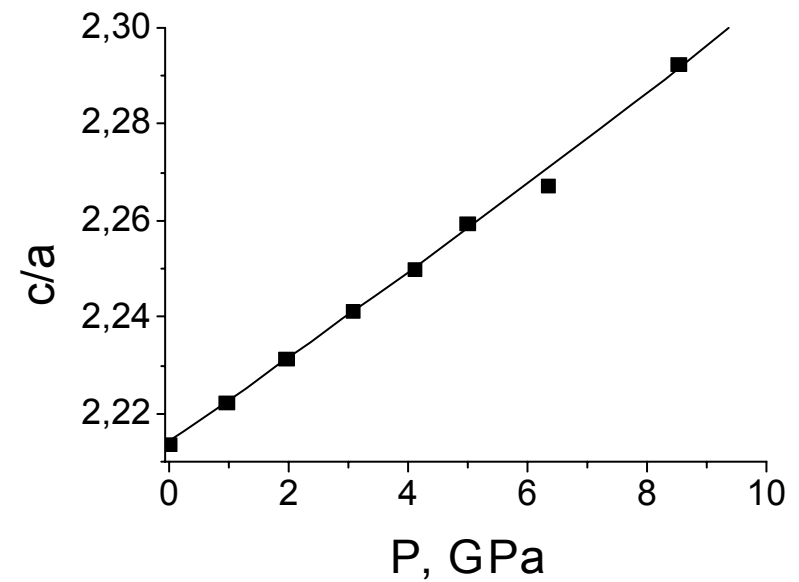
Относительные значения – стандарты, калибрانتы
(точки фазовых переходов, изменение сопротивления,
изменения параметров элементарной ячейки, изменения
спектров (окраска) и т.д.)



Примеры калибровок



Флюоресценция рубина



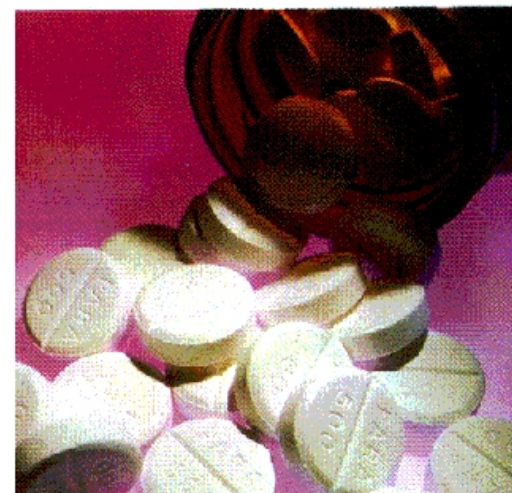
Параметры ячейки AlPO_4

Общий план изложения:

- Высокие давления – общее введение
- Исследования при высоких давлениях – как это делается?
- Для чего изучают лекарственные препараты под давлением?
- Биоимитационные системы и давление
- Что дальше?

Для чего изучают лекарственные вещества под давлением?

- Сжимаемость (важна для таблетирования),
- Превращения при производстве (измельчение, таблетирование),
- Синтез новых соединений и новых лекарственных форм, новые пути синтеза известных веществ



Проблемы фармацевтической технологии

I Получение вещества

1. Синтез
2. Экстракция из природного сырья

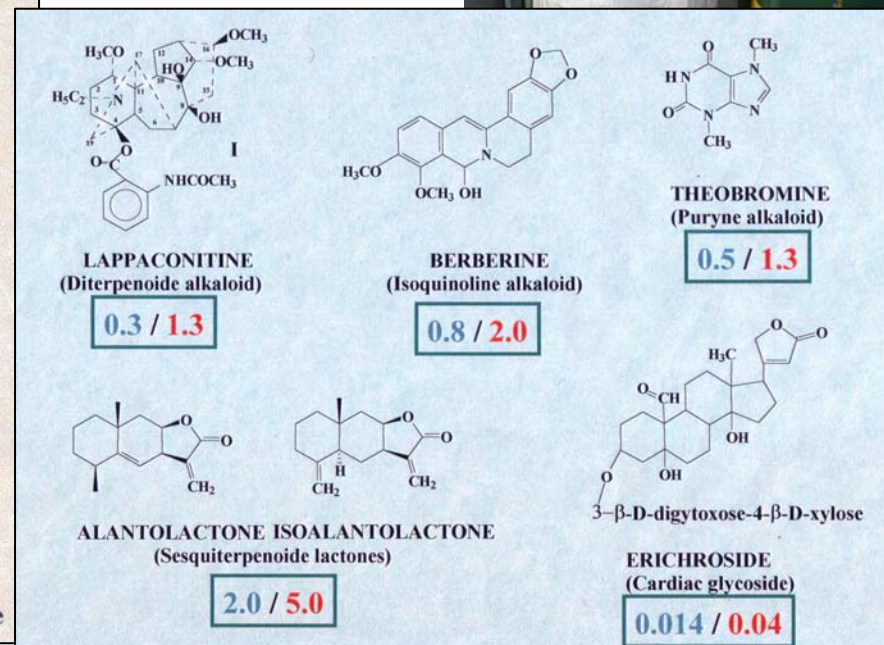
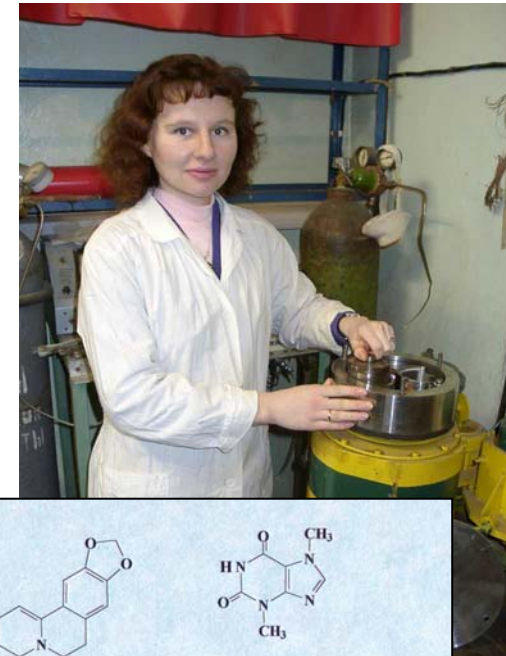
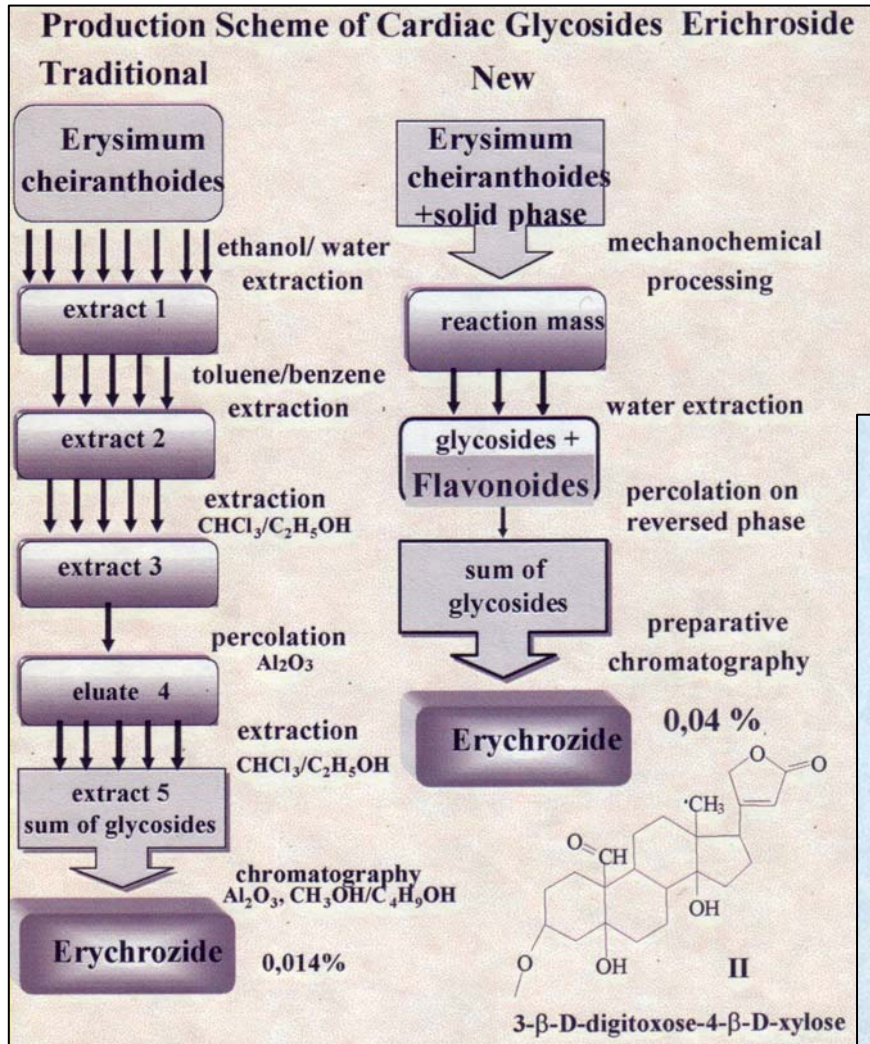
II Получение лекарственной формы

1. Модифицирование свойств (растворимость, доставка)
2. Свойства при хранении (shelf-life)

«Сухая экстракция»

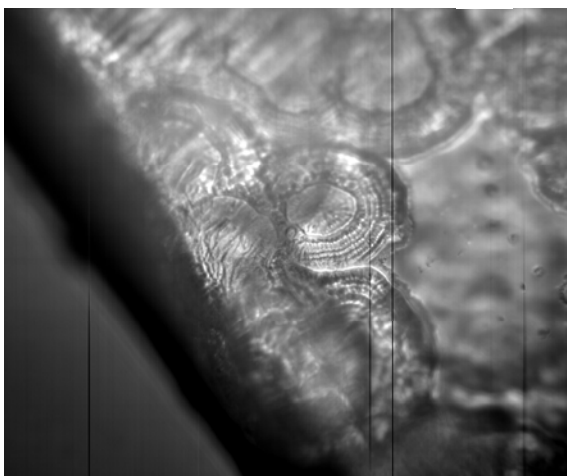
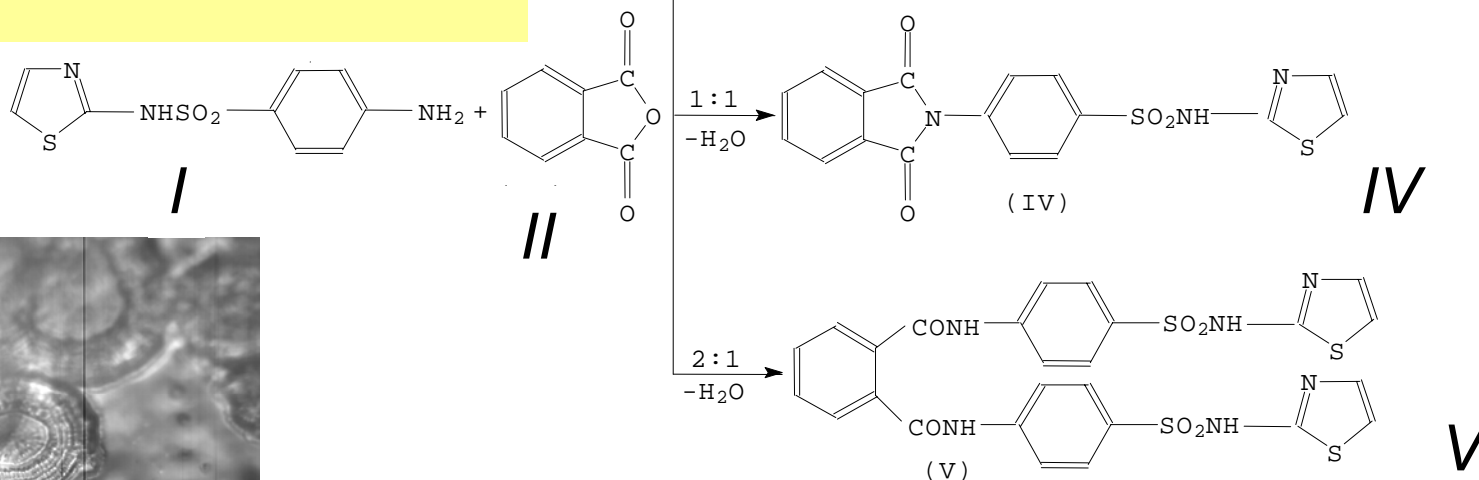
Экстракция

Классическая Механохимическая



“Сухой синтез”

Синтез фталазола (III)
в растворе неизбежно дает примеси
(IV) и (V)



Поверхность сульфатиазола
после взаимодействия с
парами фталевого
ангидрида (105 С).

Реакция $(I)_{ТВ} + (II)_{Газ}$ останавливается из-за
образования корки твердого продукта (III)

Твердофазный синтез фталазола:

- сокращение времени синтеза до 15 минут,
- не требуется растворителей
- **более чистый продукт (III), выход 97%**

Механическая обработка \Rightarrow сублимация (II) &
Постоянное обновление поверхности (I)

Механохимический синтез смешанных кристаллов

© 2007 American Chemical Society

VOL. 4, NO. 3, 299–300

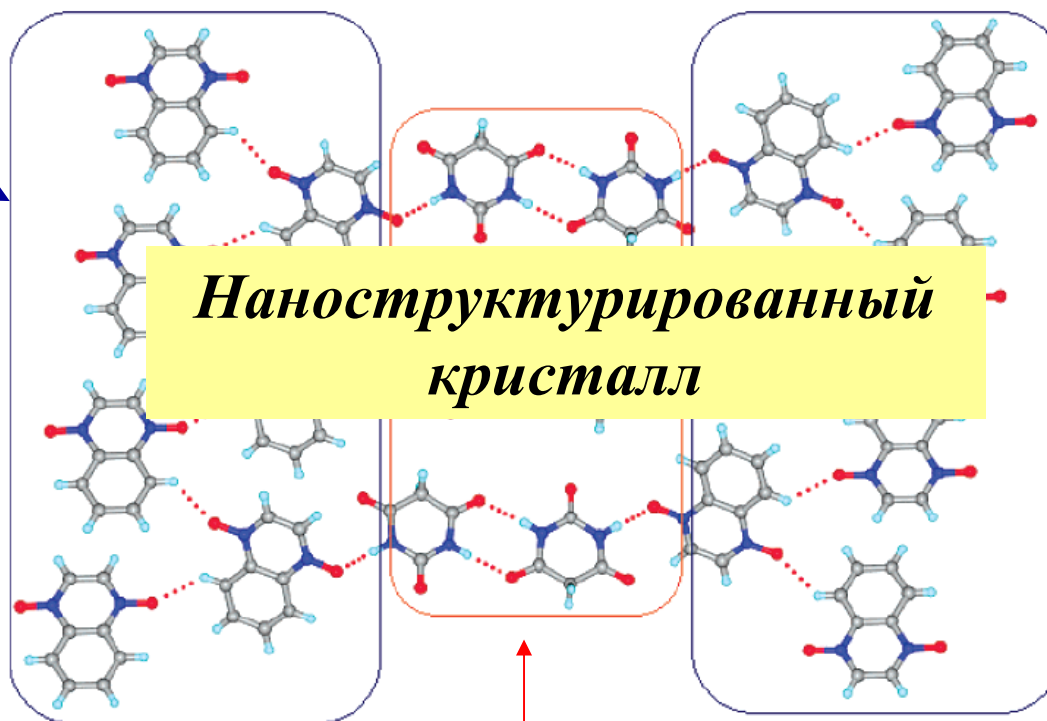
molecular
pharmaceutics

editorial

Cocrystals: Molecular Design of Pharmaceutical Materials

Quinoxaline *N, N'*-dioxide

Quinoxaline *N, N'*-dioxide

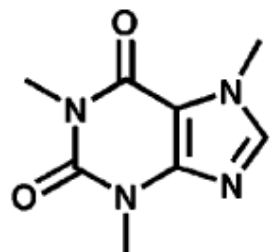


**Наноструктурированный
кристалл**

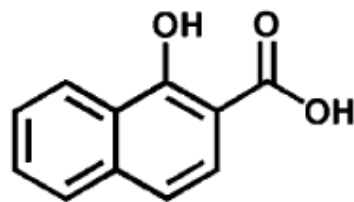
Барбитуровая кислота

Смешанные кристаллы кофеина и карбоновых кислот

Scheme 1. The Chemical Structure of (a) Caffeine, (b) 1-Hydroxy-2-naphthoic Acid, (c) 3-Hydroxy-2-naphthoic Acid, and (d) 6-Hydroxy-2-naphthoic Acid



a)



b)

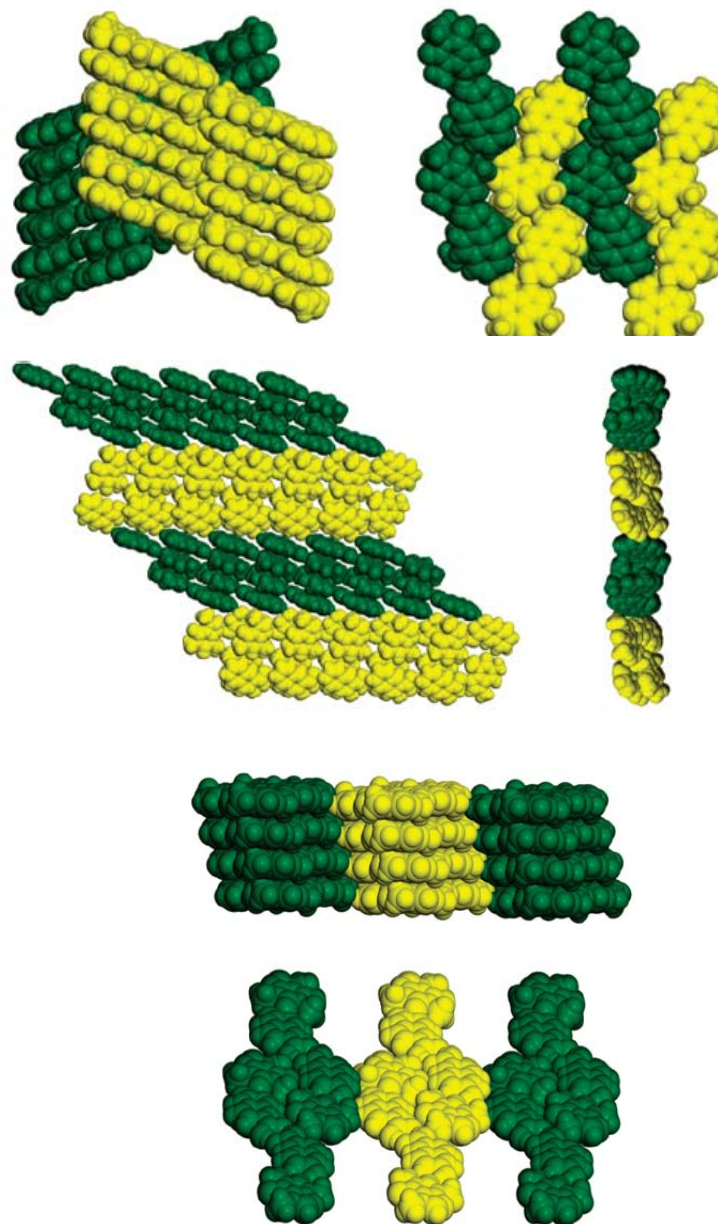
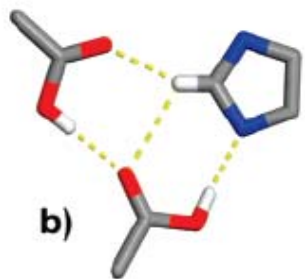
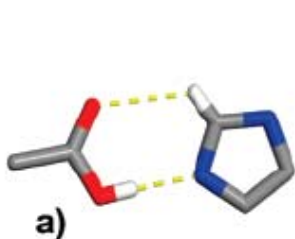
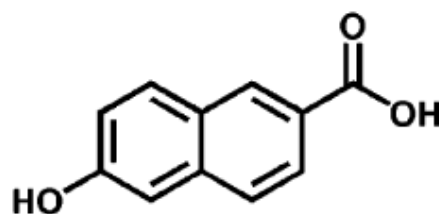
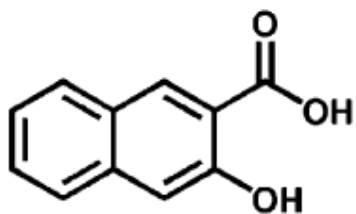


Figure 1. The most common acid–imidazole heterosynthons present in caffeine:carboxylic acid co-crystals.

*Смешанные кристаллы обладают свойствами, отличными от свойств смеси отдельных компонентов или твердого раствора:
растворимость,
способность кристаллизоваться,
устойчивость при хранении +
немаловажную роль играет патентная защита*

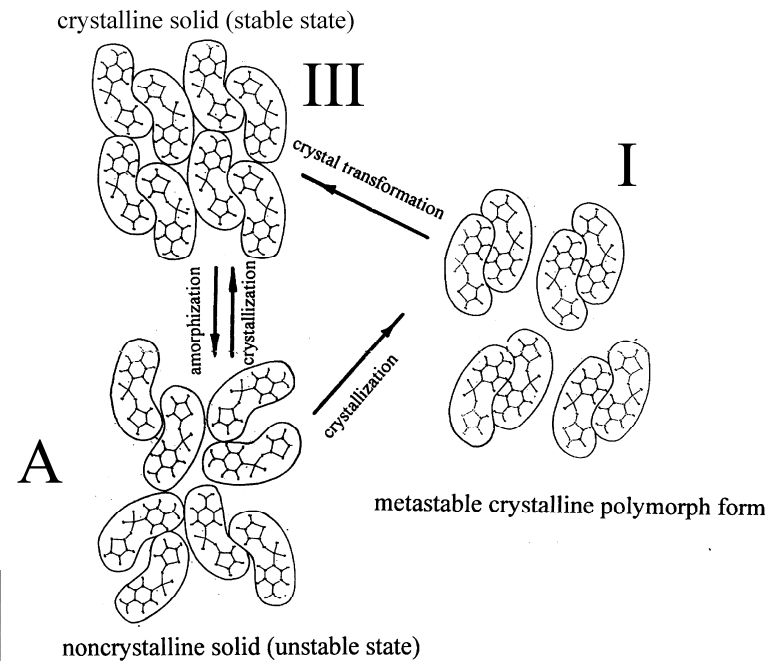
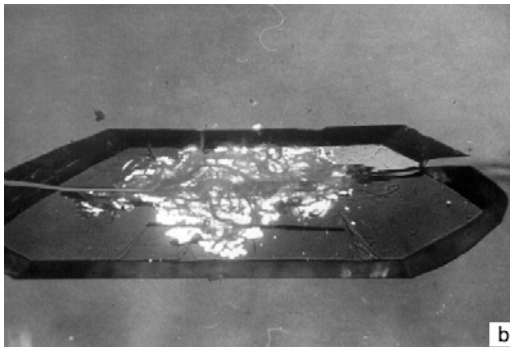
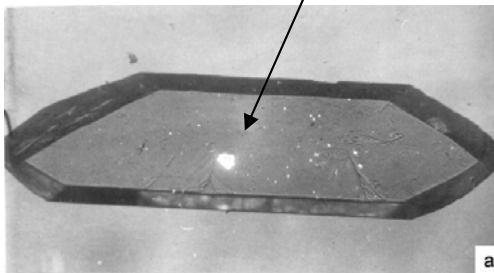
*Смешанные кристаллы нередко могут быть получены ТОЛЬКО механохимически
(НЕ сокристаллизацией из растворов или расплава)*

Солюбилизация лекарств за счет образования

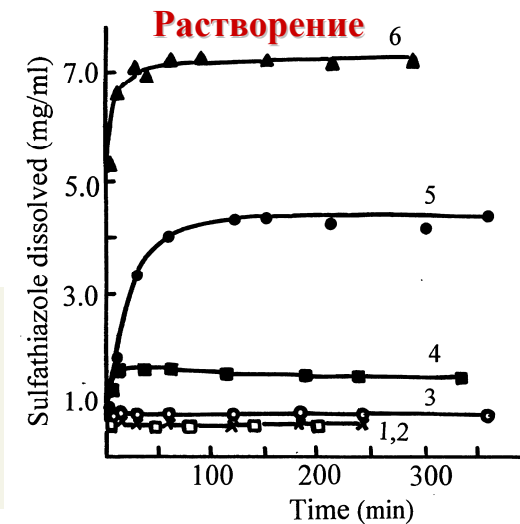
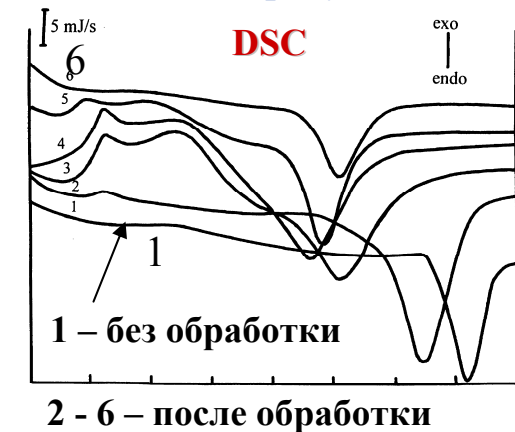
МЕХАНОКОМПОЗИТОВ

После механического воздействия, стабильная полиморфная модификация III сульфатиазола (S) переходит в модификацию I, обладающую более высокой растворимостью. Этот переход никогда не проходит до конца и протекает через образование промежуточной аморфной фазы (A). Форма I может стабилизироваться без потери активности, если смесь модификаций сульфатиазола механически обрабатывается в присутствии поливинилпирролдона (PVP).

Переход III → I,
вызванный вдавливанием



1 - без обработки, 2 - после механического воздействия, 3 - смесь S : PVP 1:1, 3 - 6 - смеси S : PVP с соотношениями веществ 3:1, 1:1, 1:3, обработанные механически в течение 12 минут.

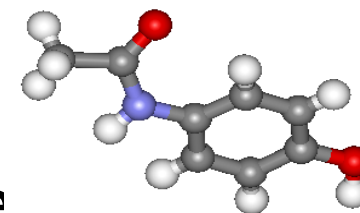


Чем могут помочь эксперименты при гидростатических давлениях пониманию механохимических процессов в реальных аппаратах?

- Синтез новых полиморфных модификаций, соединений, смешанных кристаллов;
- Понимание механизмов процессов в аппаратах. Разделение роли давления, локального нагрева (плавление, сублимация), сдвиговой деформации, генерации дефектов

Роль негидростатичности нагружения и локального нагрева

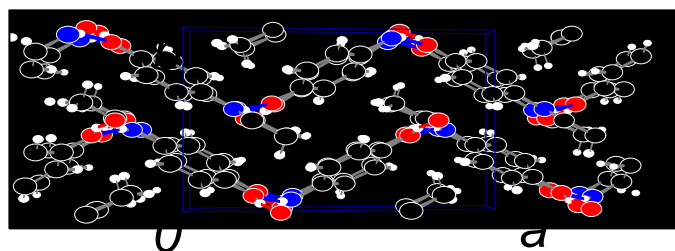
Парацетамол



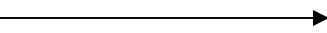
Гидростатическое давление



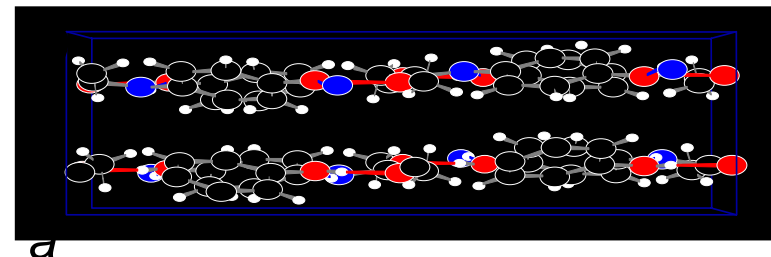
Полиморфный переход формы I ($P2_1/n$) в форму II ($Pbca$)



давление



мельница



Обработка в мельнице или ступке



Полиморфный переход формы II ($Pbca$) в форму I ($P2_1/n$)

Boldyreva, Shakhtshneider, Sowa, Ahsbahs, 1999

Размерные эффекты (монокристалл / порошок)

Парацетамол

- Монокристалл

Обратимое упругое анизотропное сжатие структуры формы I ($P2_1/n$) как минимум до 5 ГПа ($\Delta V/V = -20\%$); нет полиморфных переходов

- Порошок

Необратимый переход формы I ($P2_1/n$) в форму II ($Pbca$) ниже 2 ГПа

Boldyreva, Shakhtshneider, Sowa, Ahsbahs, 2002

Твердые тела и передающие давление жидкости

- Кристаллизация из растворов
- Влияние на твердые тела в жидкости
- Образование сольватов
- Влияние на синтез смешанных кристаллов
(solvent-drop crystallization)
- Влияние на образование полиморфных модификаций
- Влияние на фазовые переходы



Влияние «инертной» жидкости, передающей давление



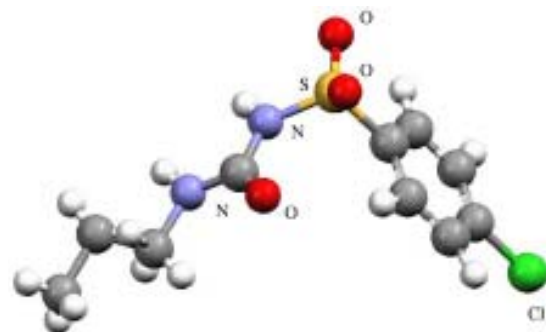
Available online at www.sciencedirect.com



International Journal of Pharmaceutics xxx (2006) xxx–xxx

INTERNATIONAL JOURNAL OF
PHARMACEUTICS

www.elsevier.com/locate/ijpharm



Effect of pressure up to 5.5 GPa on dry powder samples of chlorpropamide form-A

Elena V. Boldyreva^{a,b,*}, Vladimir Dmitriev^c, Bruno C. Hancock^d

^a REC-008 Novosibirsk State University, Ploegova, 2, Novosibirsk 630090, Russia

^b Institute of Solid State Chemistry SB RAS, Kutateladze, 18, Novosibirsk 630128, Russia

^c Swiss-Norwegian Beamlines, European Synchrotron Radiation Facility, PO Box 220, F-38043 Grenoble Cedex, France

^d Pfizer Inc., Eastern Point Road, Groton, CT 06340, USA

Received 2 May 2006; received in revised form 11 July 2006; accepted 12 July 2006

Int. J. Pharm. (2006) v, 327, pp. 51-57.

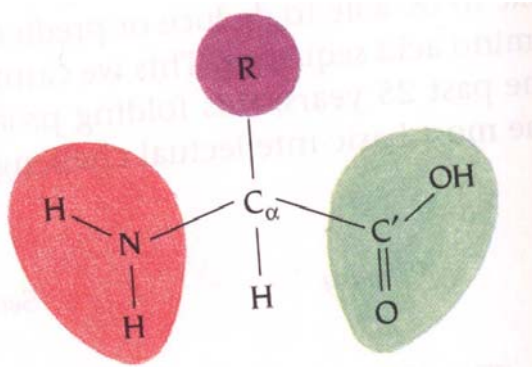
Наличие и направление фазовых переходов в антидиабетическом препарате зависит от выбора среды для передачи давления, а при таблетировании порошков – от наличия и состава даже следов жидкости в образце.

*Работа с фирмой Pfizer, Inc. (США)
и Сибирским Федеральным университетом (Красноярск)*

Общий план изложения:

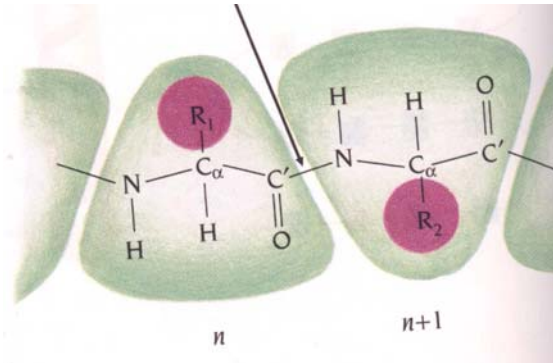
- Высокие давления – общее введение
- Исследования при высоких давлениях – как это делается?
- Для чего изучают лекарственные препараты под давлением?
- Биоимитационные системы и давление
- Что дальше?

АМИНОКИСЛОТА



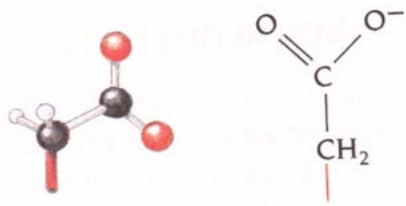
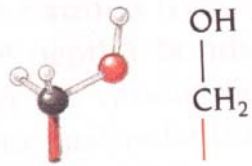
ПОЛИПЕПТИД

Пептидная связь

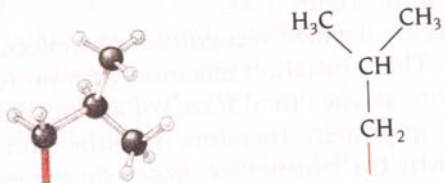


R:

серин

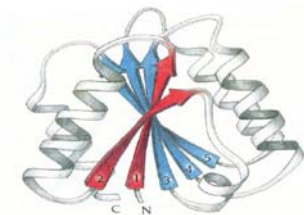
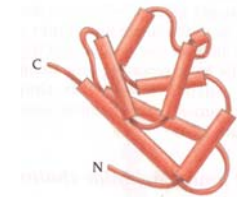
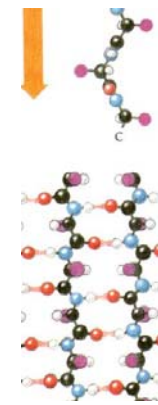
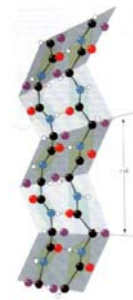
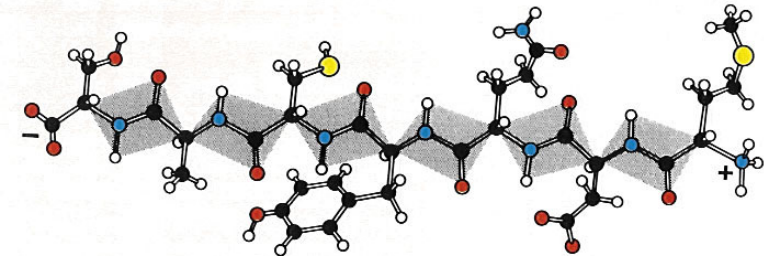
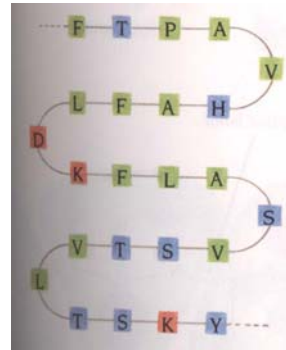


аспартиновая кислота

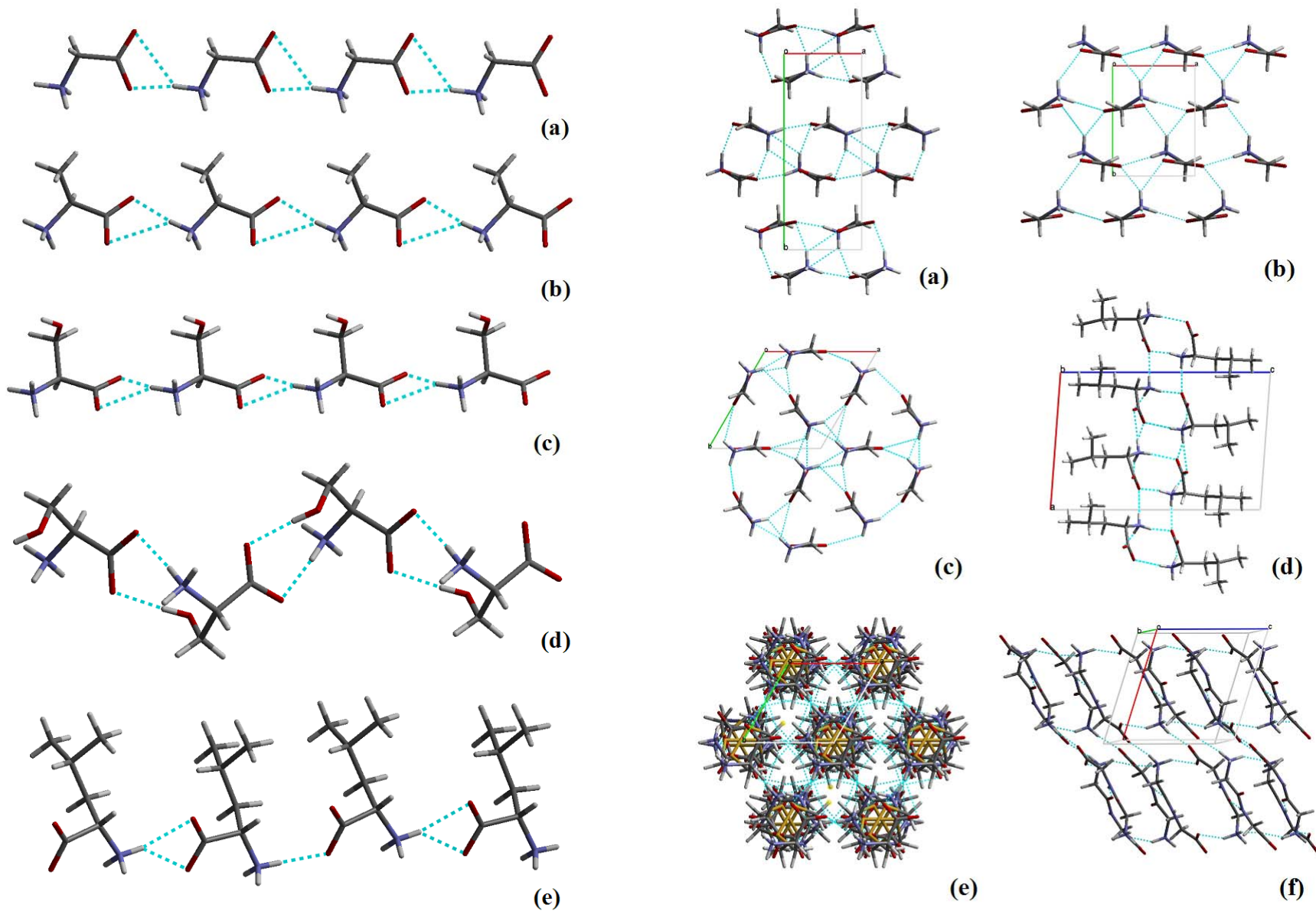


лейцин

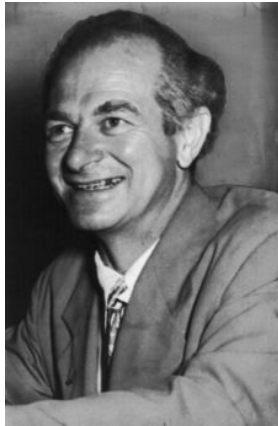
и др.



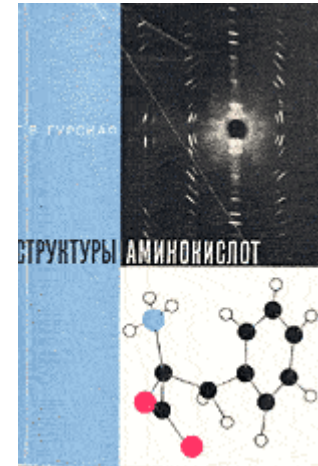
Кристаллы аминокислот как модели



Кристаллы аминокислот как модели



In 1951, based on the structures of amino acids and peptides and the planarity of the peptide bond, Pauling and colleagues correctly proposed the alpha helix and beta sheet as the primary structural motifs in protein secondary structure.



- Геометрия индивидуальных фрагментов;
- Геометрия контактов с окружением;
- Структура ассоциатов на основе аминокислот (цепи, слои, пакеты слоев с чередованием гидрофобных / гидрофильных областей, спирали, трехмерные сетки, нанопористые структуры);
- Динамика ассоциатов на основе аминокислот

Использование кристаллов аминокислот и дипептидов как модельных объектов:

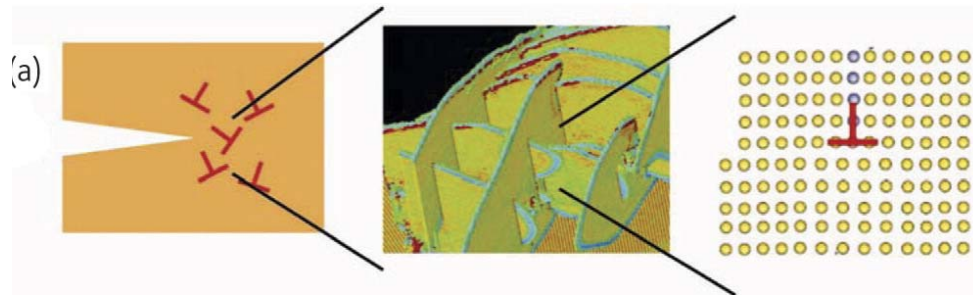
- **Исследование образования новых фаз, аморфизации, химических превращений**
- **Детальное исследование изменений конформации молекул и межмолекулярных связей**
- **Исследование анизотропии деформации структуры**



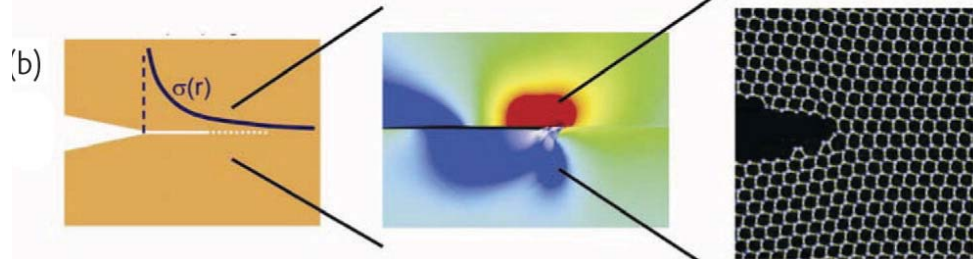
Моделирование изменений конформации избранных фрагментов биополимера, исследование конформационной жесткости отдельных фрагментов, оптимизация потенциалов, описывающих взаимодействия в структуре

Кристаллические аминокислоты и малые пептиды – молекулярные материалы и биомиметики

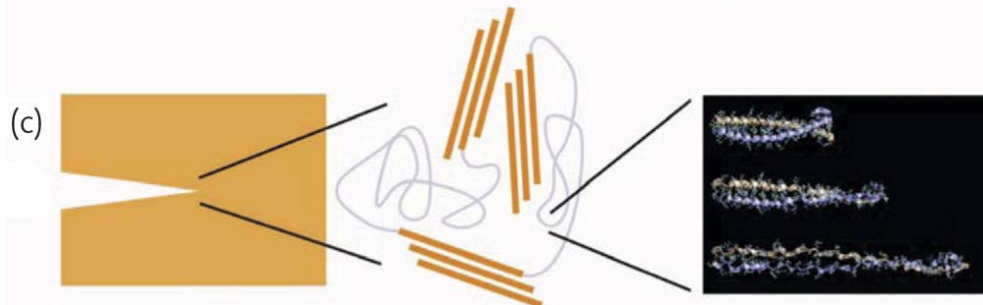
Пластичные материалы



Хрупкие материалы



Биополимеры



Динамика молекулярных фрагментов

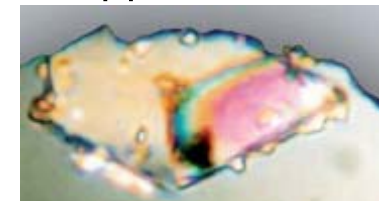
+

Сжимаемость водородных связей

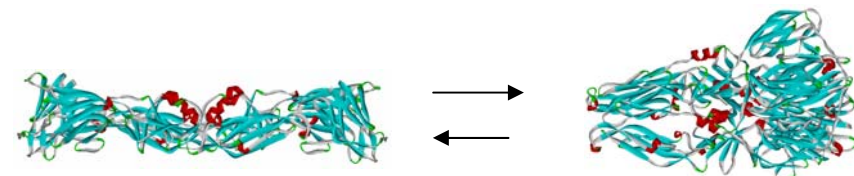


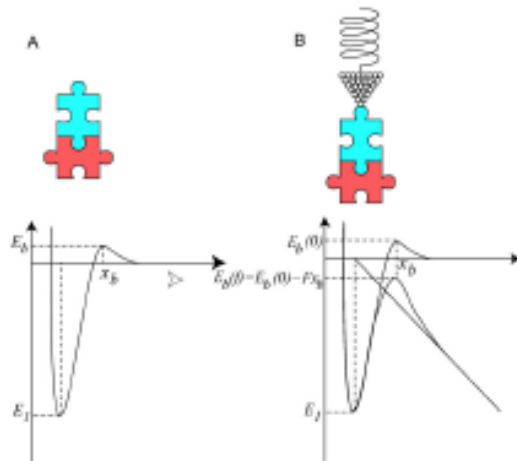
Механизмы:

- фазовых переходов в кристаллах,

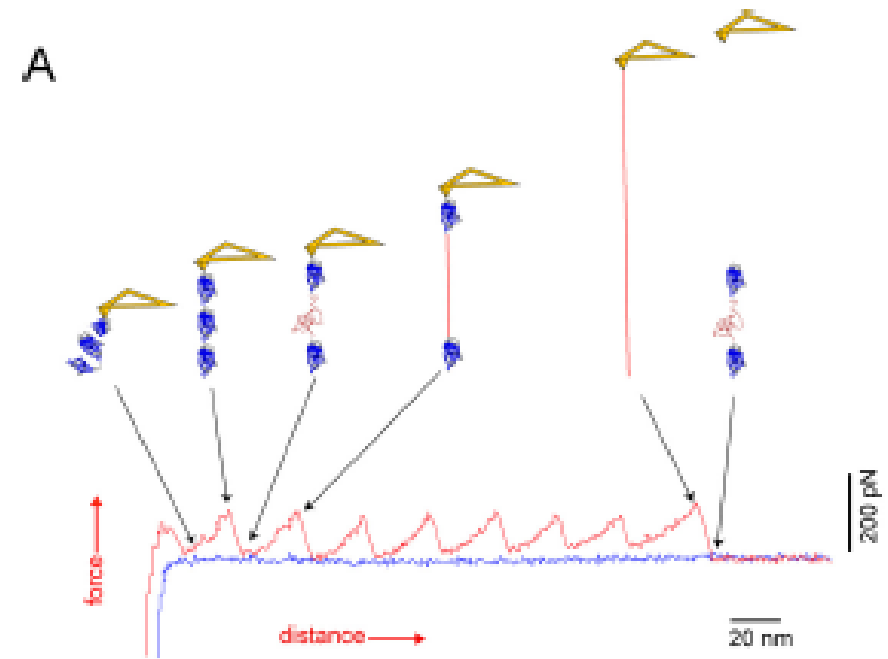


- конформационных переходов в биополимерах





F. Valle et al. / Physics of Life Reviews xxx (xxxx) xxxxxx

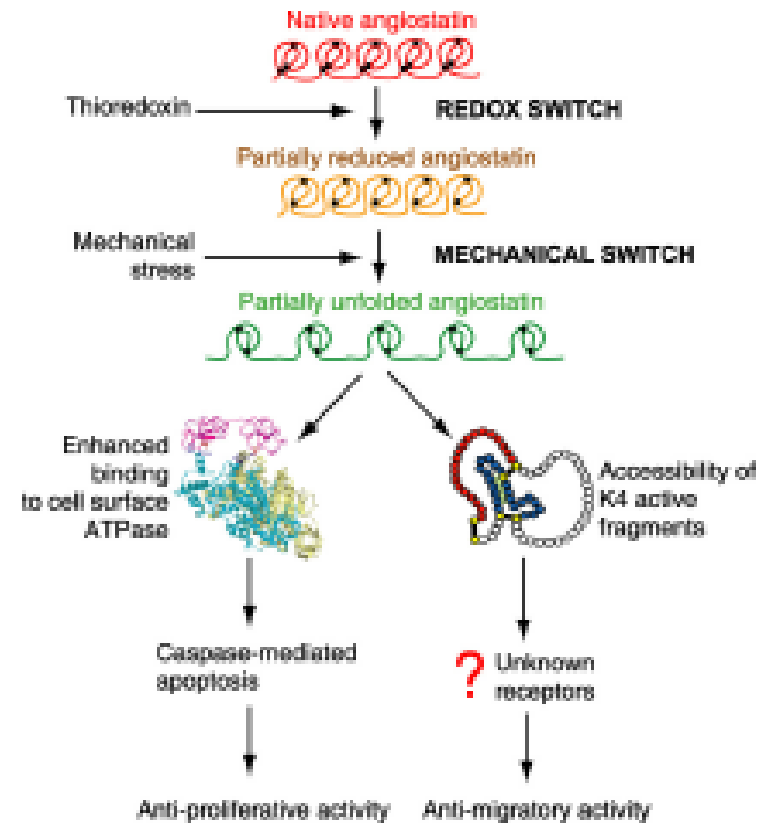


Review

The interplay between chemistry and mechanics in the transduction of a mechanical signal into a biochemical function

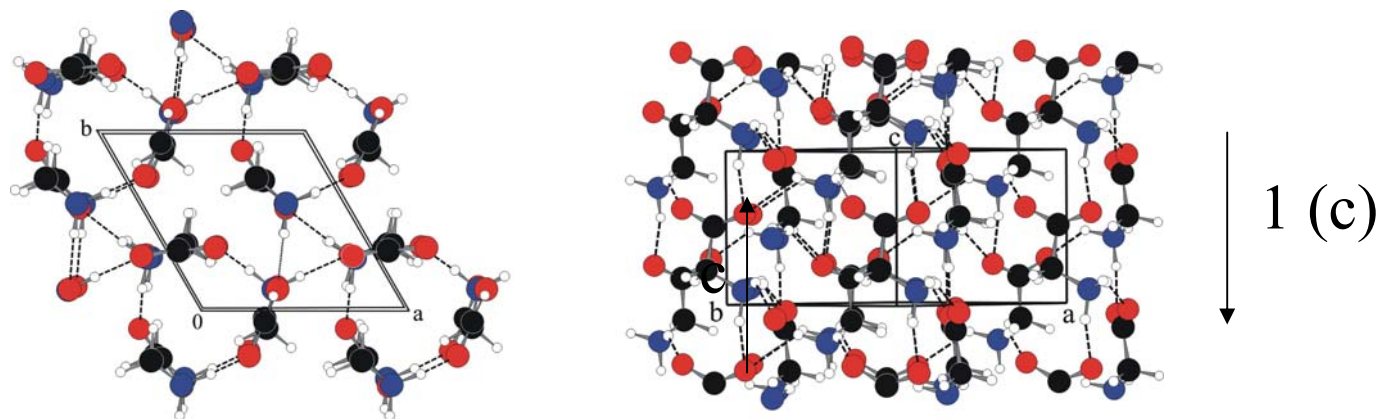
Francesco Valle, Massimo Sandal, Bruno Samori*

University of Bologna, G. Moruzzi Department of Biochemistry, Via Iraceo 48, 40126 Bologna, Italy
Received 22 June 2007; accepted 25 June 2007



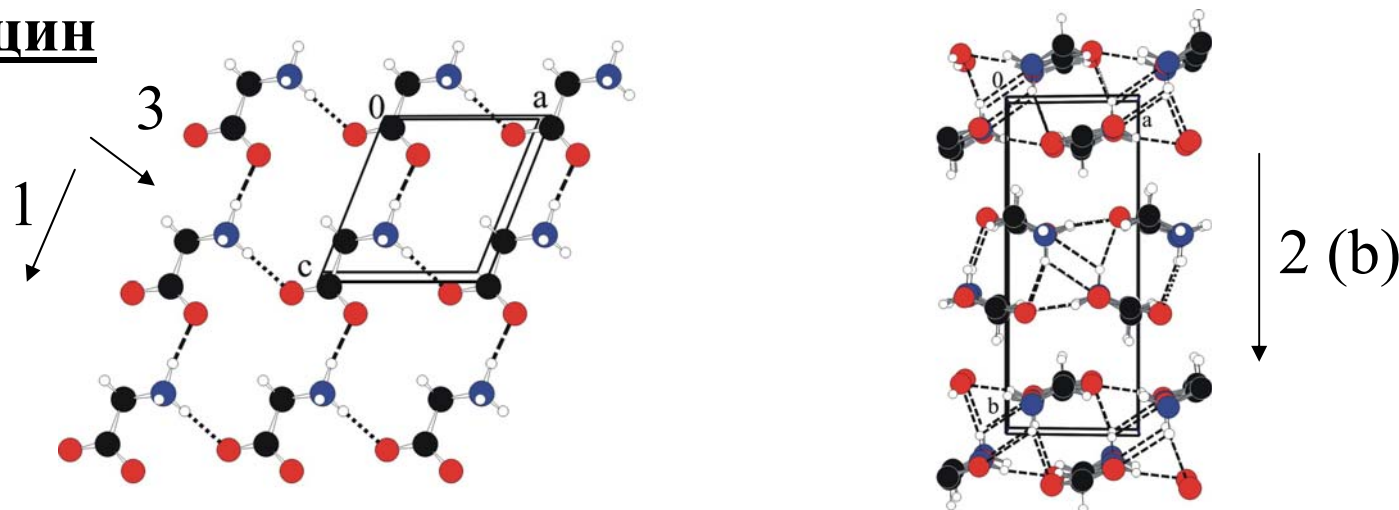
Исследование анизотропии деформации структуры

γ-ГЛИЦИН



Сжимаемость вдоль цепочек ниже в 4 раза, чем в плоскости, перпендикулярной оси цепочки

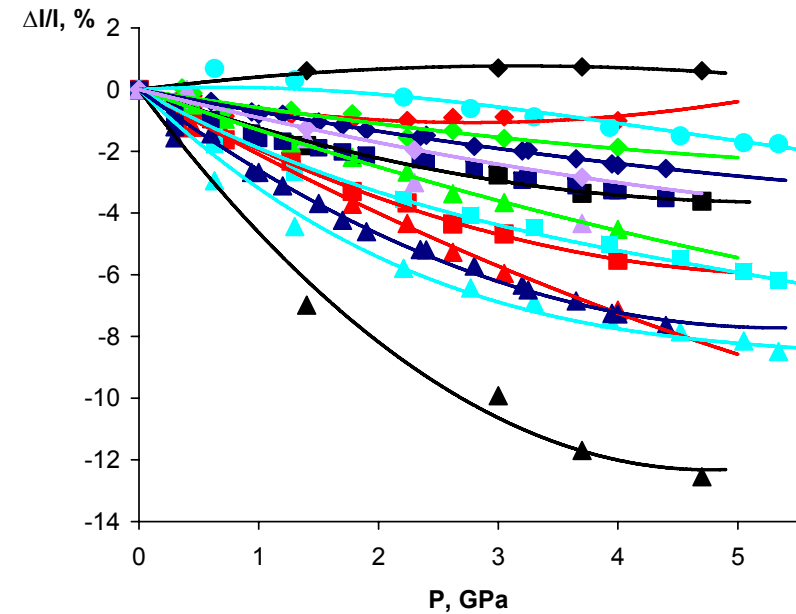
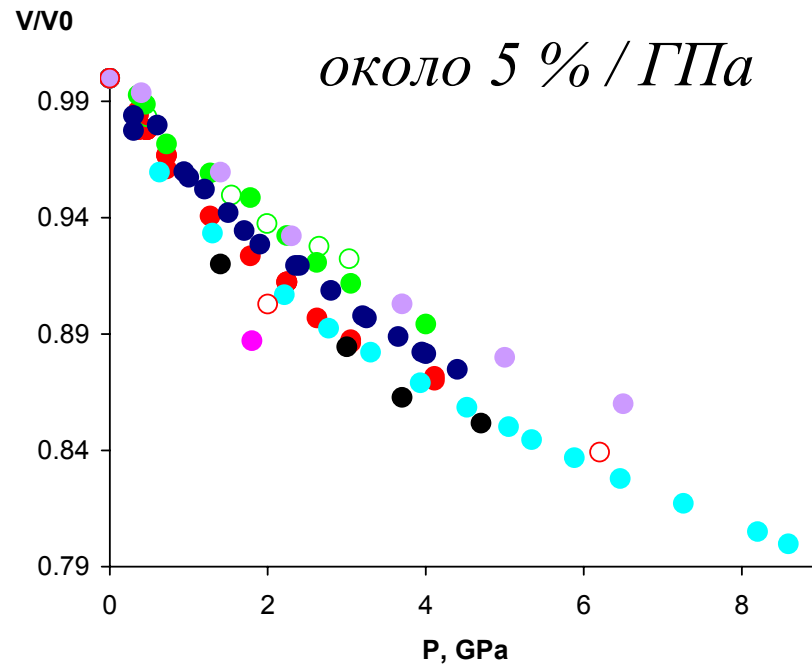
α-ГЛИЦИН



1 – слабое растяжение; 2 – среднее сжатие; 3 – сильное сжатие

Изменения расстояний N-O ± 0.02-0.05 Å / ГПа (в белках - ± 0.1 – 0.01 Å / GPa)

Сравнение объемной сжимаемости и линейной деформации ряда аминокислот



Слева – относительные изменения объема; справа – линейная деформация (%)

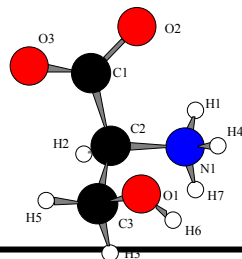
*Черный - α -glygly, красный - α -gly, зеленый - γ -gly, синий - L-ser,
голубой - DL-ser, лиловый - L-цистин, розовый - L-цистеин*

Зачем применять высокие давления / низкие температуры?

- Инструмент влияния на подвижность / геометрию отдельных фрагментов и кристаллическую структуру в целом
- Давления могут возникать при производстве лекарственных форм
- Биополимеры подвергаются действию механических сил в природе
- Многие кристаллические аминокислоты - пьезоэлектрики

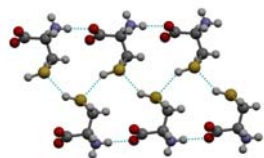
Фазовые переходы при низких T и высоких P (изменение ориентации и Н-связей боковых групп)

Серин
($R = O$)

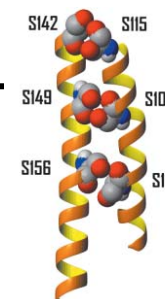


Цистеин
($R = S$)

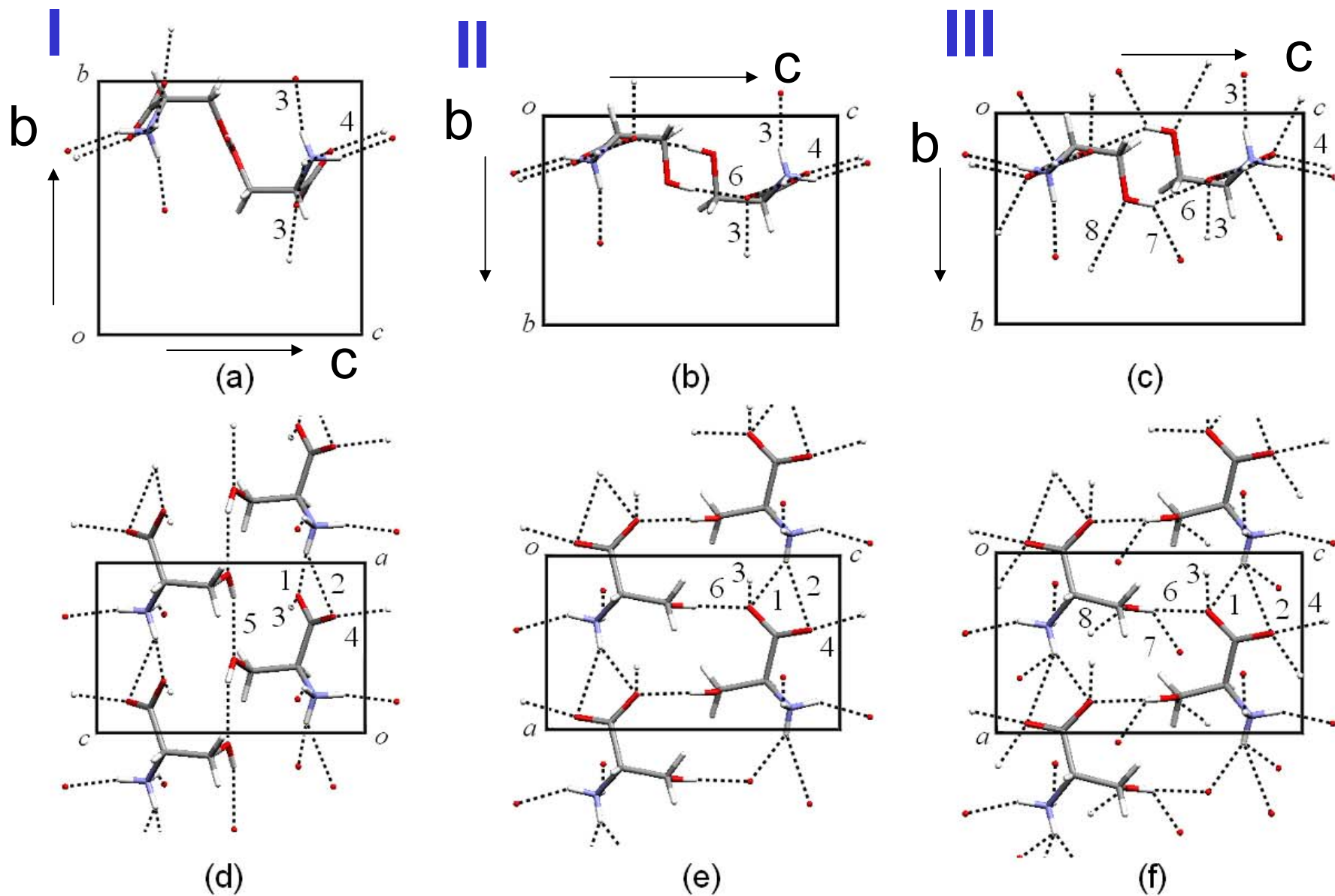
Легкий ($R = O$)	Боковой фрагмент	Тяжелый ($R = S$)
Сильные (ОН...О)	Н-связи	Слабые (SH...S)
Каскадные, быстрое прохождение границы раздела	Фазовые переходы (пространственное развитие)	Делокализован по объему кристалла
Резкие, в точках, без гистерезиса	Фазовые переходы (T, P условия)	Растянутые, большой гистерезис по T и P
Сохраняется	Монокристалл	Разрушается
Не фиксируются	Переходные состояния	Много локальных конформационных состояний



Boldyreva et al. *Chem. Phys. Letters*, 2006
Boldyreva et al, *J. Amer. Chem. Soc., Commun.*, 2007
Boldyreva et al, *J. Phys. Chem. B*, 2007 & 2008

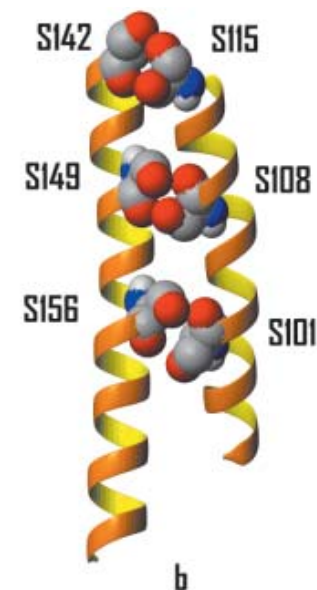
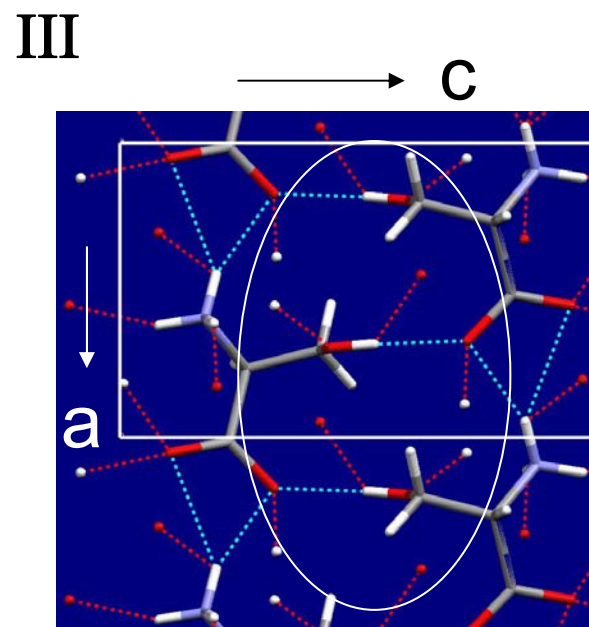
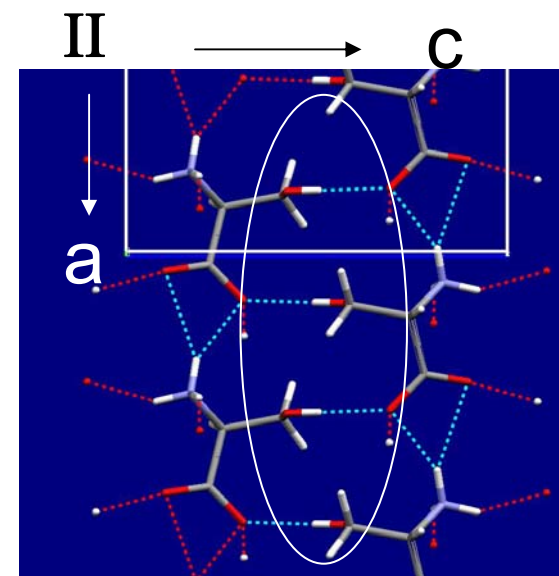
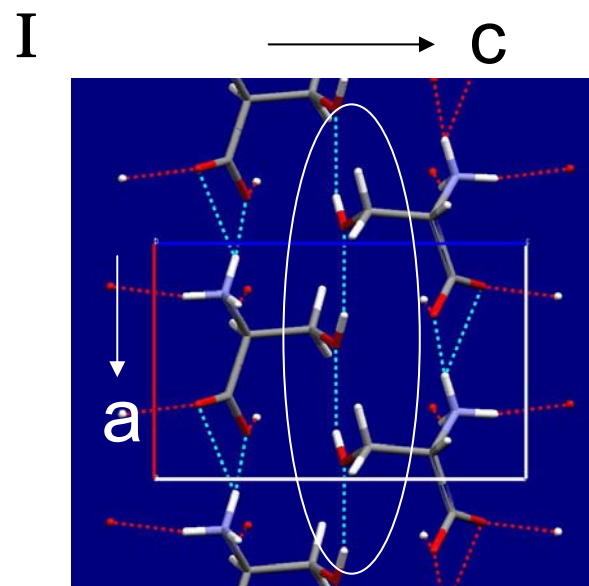
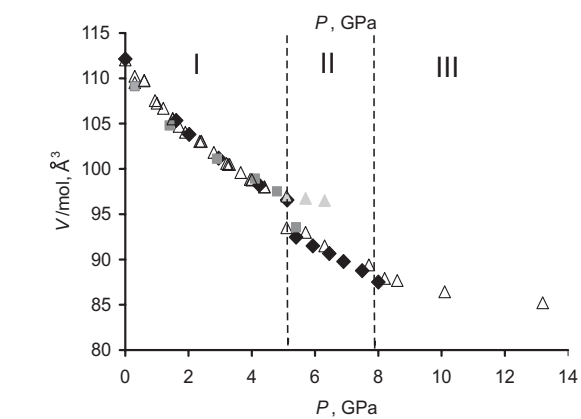
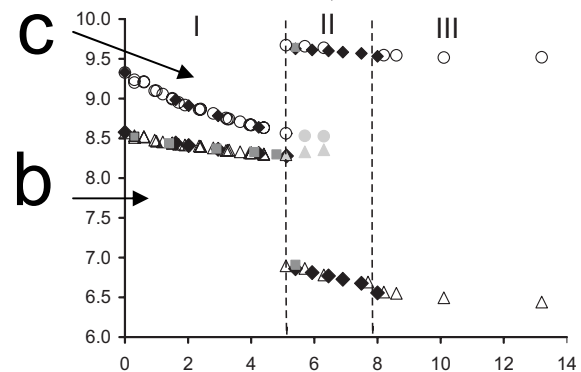
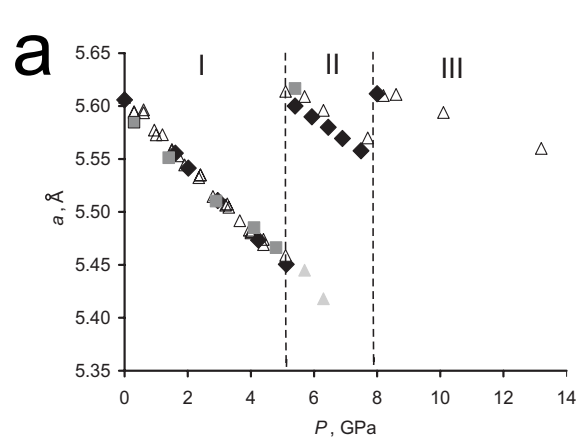


Фазовые переходы в L-serine

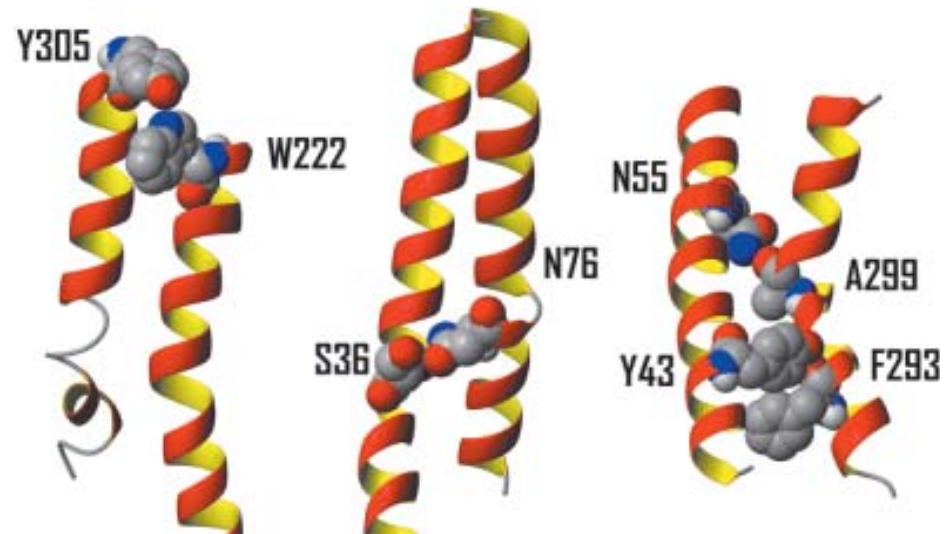
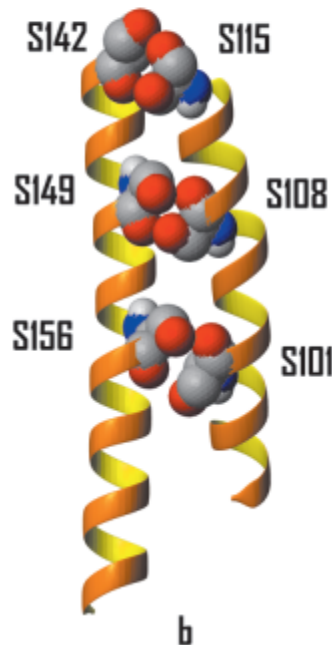
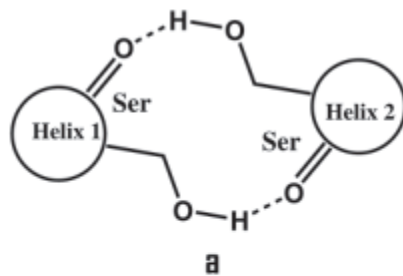


Boldyreva et al, Chem. Phys. Lett, 2006

Фазовые переходы в L-серине



Аналогия фазовых переходов в L-серине с работой сериновой молнии в мембранных протеинах



PROTEINS: Structure, Function, and Genetics 47:209–218 (2002)

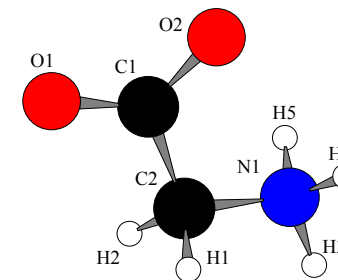
Interhelical Hydrogen Bonds and Spatial Motifs in Membrane Proteins: Polar Clamps and Serine Zippers

Larisa Adamian and Jie Liang*

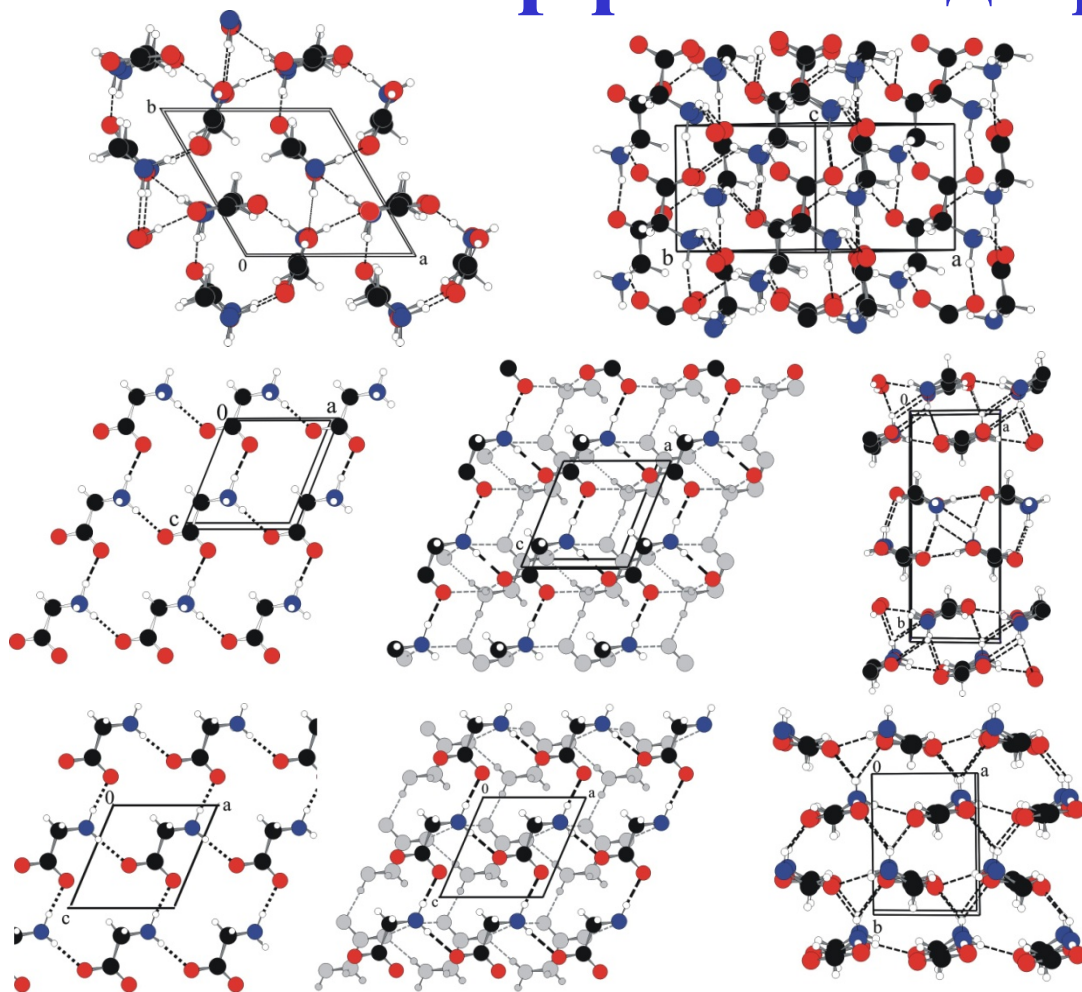
Department of Bioengineering, the University of Illinois at Chicago, Chicago, Illinois



Yoichi Iitaka
(1927-2006)



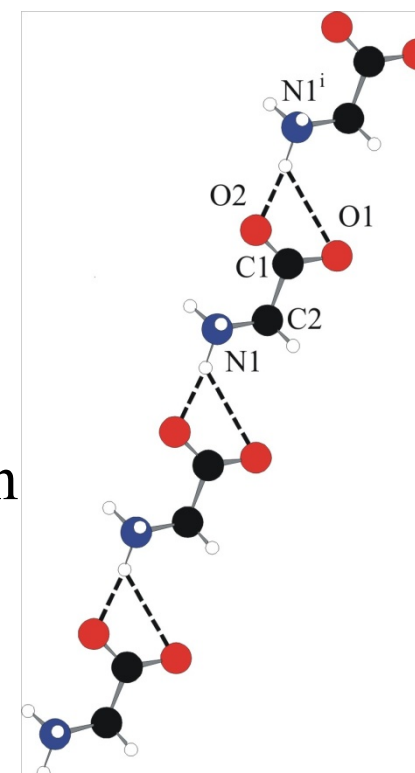
Полиморфные модификации глицина



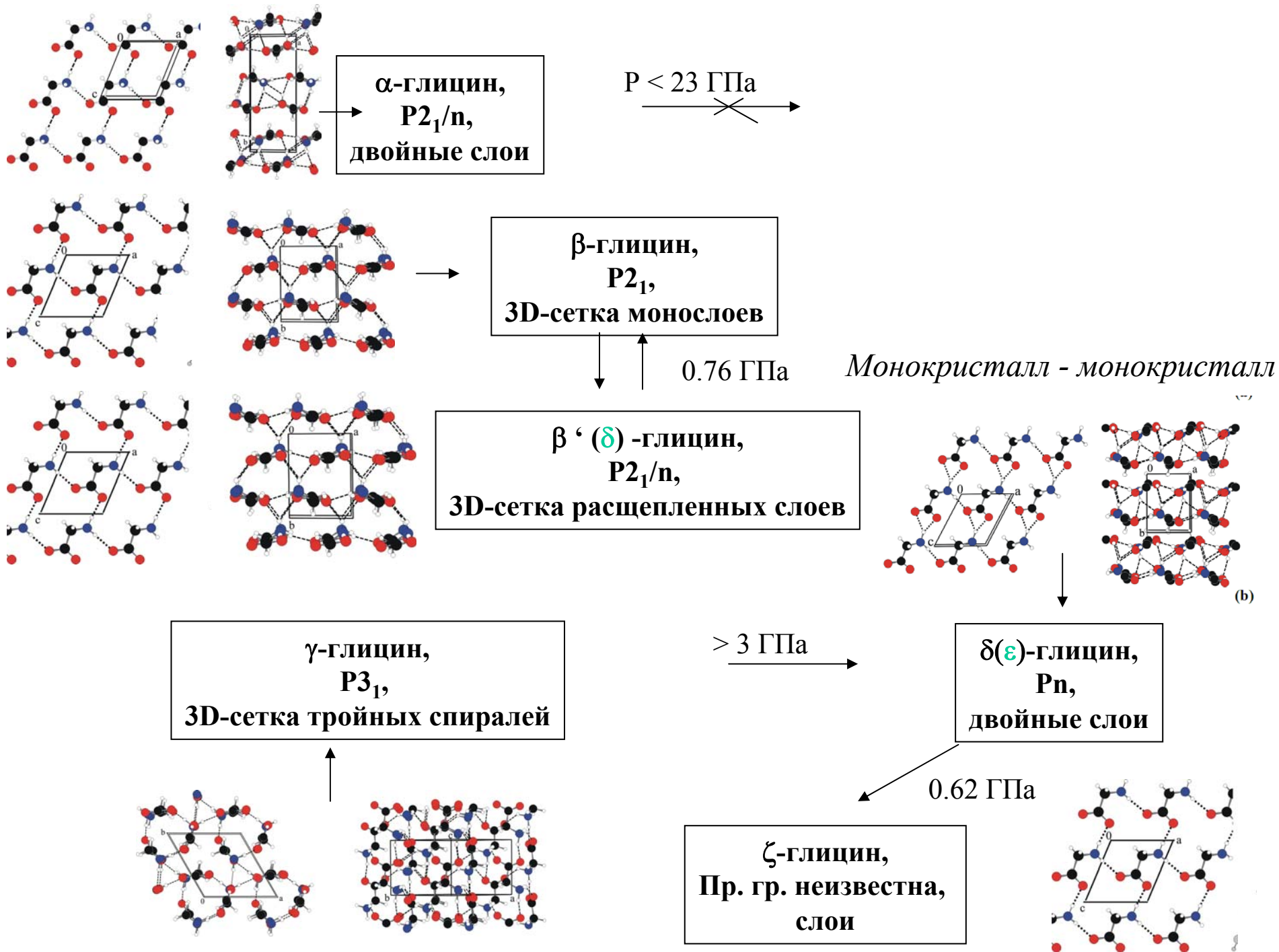
γ $P3_1$

α $P2_1/n$

β $P2_1$

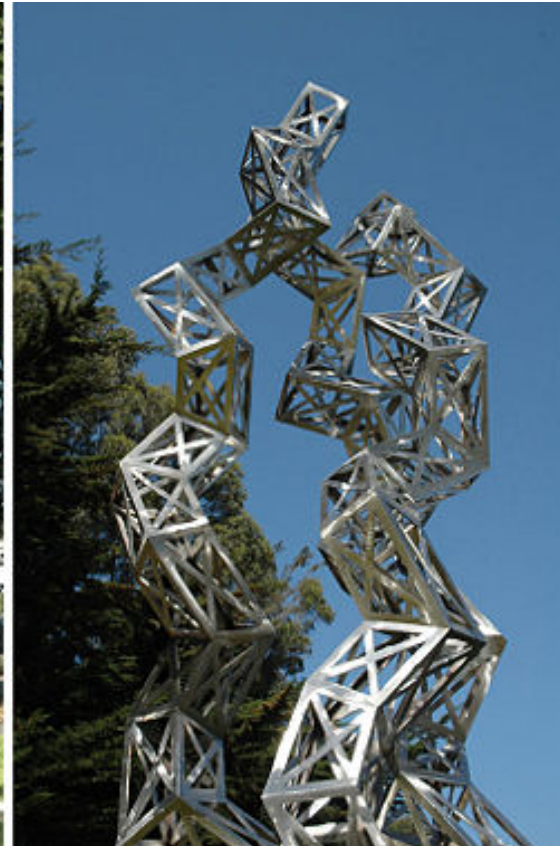
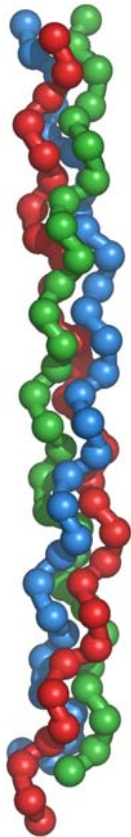


litaka, 1950s



Фазовые переходы в глицине:

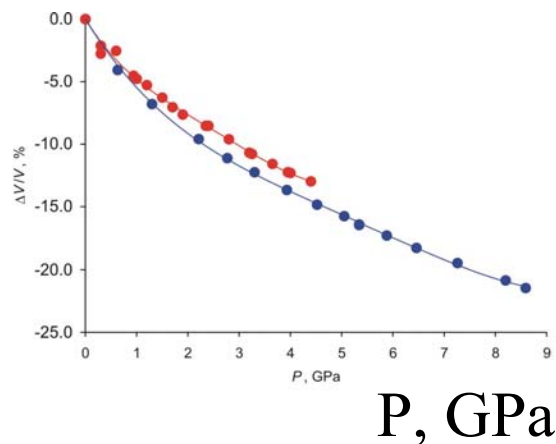
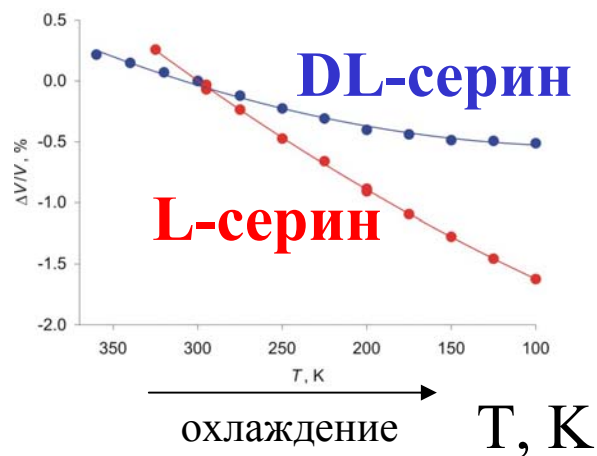
- Тройная спираль – слоистая структура (необратим);
- Слоистая структура – слоистая структура (чувствительны к укладке слоев)



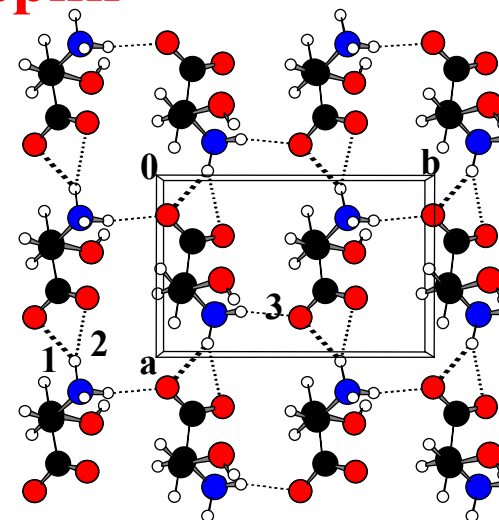
*Julian Voss-Andreae's sculpture Unraveling Collagen (2005)
(a "metaphor for aging and growth")*

Сравнение хиральных / рацемических форм

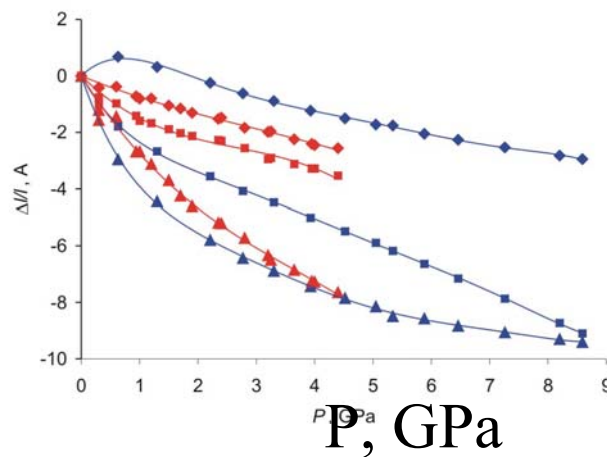
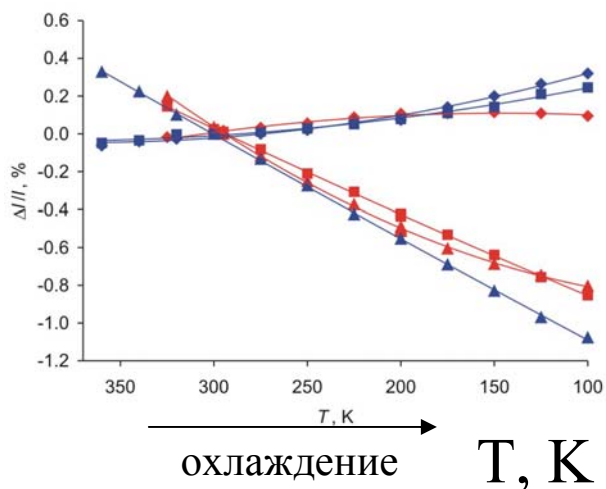
Относительное изменение объема



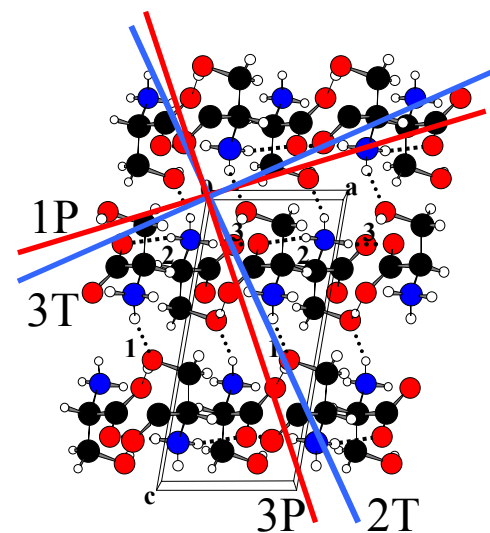
L-серин



Относительная линейная деформация



DL-серин

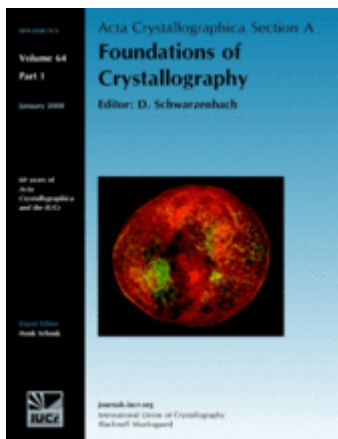


Общий план изложения:

- Высокие давления – общее введение
- Исследования при высоких давлениях – как это делается?
- Для чего изучают лекарственные препараты под давлением?
- Биоимитационные системы и давление
- Что дальше?

Направления развития исследований при высоких давлениях:

- Стремление ко все **более высоким** давлениям в сочетании с экстремально высокими / низкими температурами;
- Стремление ко все **более сложным объектам**
- Стремление ко все **более детальному описанию и глубокому пониманию** процессов и явлений. Моделирование более сложных объектов при помощи более простых и доступных для экспериментов.



Литература для домашнего чтения:

Acta Cryst. (2008). **A64**, 218-231

High-pressure diffraction studies of molecular organic solids. A personal view

E. V. Boldyreva

Synopsis: *A concise review of the retrospect and prospects of high-pressure diffraction studies of organic crystals, with a special emphasis on pharmaceuticals and biomimetics.*

www.iucr.org





Студенты, аспиранты, молодые ученые из других городов и стран СНГ



Совместные работы с зарубежными коллегами

Pfizer



**Bari
Technical University**

**Ждем на экскурсию в НОЦ
«Молекулярный дизайн и
экологически безопасные
технологии» (Новосибирский
государственный университет)!**