

EJEMPLOS DE EXPERIMENTOS DE ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) PARA LA CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE INGREDIENTES FARMACÉUTICOS ACTIVOS (IFAs)

Santos, L.N; Rillo, S.; Della Vecchia, M.; López, E.E.
INTI-Química
eelopez@inti.gov.ar

Introducción

Los laboratorios productores de medicamentos deben realizar la identificación de los principios activos farmacéuticos (IFAs) que utilizan según los requerimientos de la autoridad regulatoria, siendo necesaria la completa caracterización estructural del mismo cuando éste no se halla codificado, por lo que resulta la espectroscopia de RMN una herramienta insustituible. En este trabajo se presentan varios ejemplos donde se hace uso de diferentes experimentos de RMN tanto uni como bi-dimensional (correlaciones homo y heteronucleares) para caracterizar a distintos IFAs.

Los principios activos caracterizados son de variada estructura y uso farmacológico (Tabla 1).

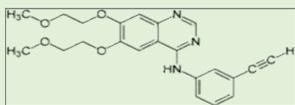
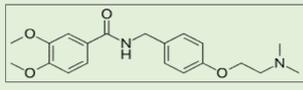
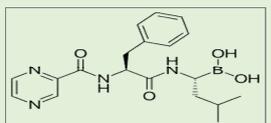
Estructura química	Usos
	Erlotinib: tratamiento del cáncer
	Itopride HCl: tratamiento de la dispepsia
	Bortezomib: tratamiento del mieloma múltiple

Tabla 1: Principios activos caracterizados

Adicionalmente puede requerirse el uso de técnicas complementarias como espectrometría de masas para verificar la masa molecular, la espectrometría infrarroja para verificar la presencia de ciertos grupos funcionales o rayos X para verificar la presencia de heteroátomos no detectables por RMN.

Objetivo

Caracterizar distintos principios activos farmacéuticos a solicitud de distintos laboratorios de especialidades medicinales mediante técnicas de RMN.

Descripción

Se utilizó un espectrómetro de RMN marca Bruker, modelo Avance DPX400 de 9.4 Tesla. Las muestras se disolvieron en solventes deuterados para optimizar la homogeneidad del campo magnético (óxido de deuterio para Itopride HCl, dimetil sulfóxido- d_6 para Erlotinib y cloroformo- d para Bortezomib): En todos los casos se utilizaron tubos Wilmad 527-pp de 5 mm, los espectros se obtuvieron a 25°C.

Resultados

La asignación de los átomos de ^1H y ^{13}C se realizó en base a los desplazamientos químicos de las señales en los respectivos espectrogramas monodimensionales de ^1H y ^{13}C así como por la multiplicidad de las señales en el espectro de protón. Es así como en el espectro de protón aparecen a campos bajos las señales de los hidrógenos aromáticos y a campos altos y medios los hidrógenos de metilos y metilenos. Estas asignaciones se confirman con la realización de otros experimentos uni y bi-dimensionales. Como ejemplo se muestran algunos experimentos claves para la caracterización de estas moléculas, como ser:

Espectro 2D TOCSY:

El experimento TOCSY realizado para la molécula de Itopride HCl corrobora la

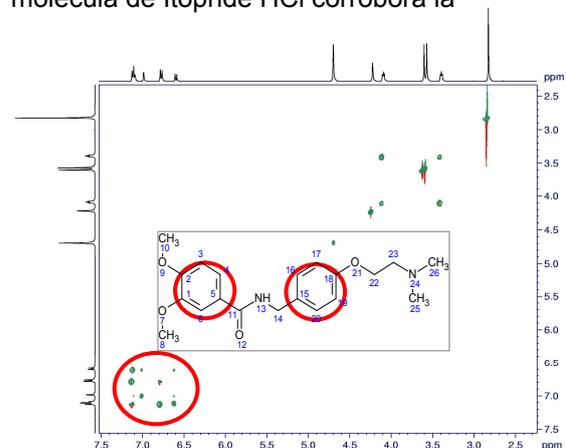


Figura 1: Espectro 2D TOCSY de Itopride HCl en óxido de deuterio.

asignación de los ^1H aromáticos pues permite identificar el acoplamiento H-H entre hidrógenos que se encuentran a dos y tres enlaces, pero que pertenecen al mismo sistema de spines, como se ve en los **círculos rojos** de la Figura 1.

Espectro ^{13}C DEPT 135:

El experimento DEPT 135 se basa en la transferencia de polarización que genera un desplazamiento de la fase de los grupos metilenos (CH_2) de 180° , por lo cual aparecen como una señal invertida, mientras que los C cuaternarios no son visibles. En la Figura 2 se observa el resultado de este experimento realizado para la molécula de Erlotinib, donde la señal invertida corrobora la presencia y desplazamientos de los C señalados (**círculos rojos**)

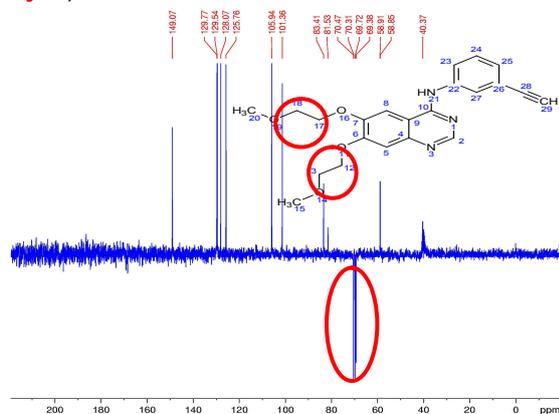


Figura 2: Espectro RMN ^{13}C DEPT 135 de Erlotinib en dimetil sulfóxido- d_6

Espectro HSQC

El espectro 2D HSQC correlaciona los protones directamente unidos a los carbonos vecinos (correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace). En el caso del Bortezomib (Figura 3) esto se observa en

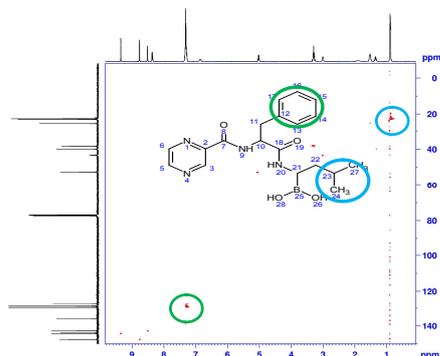


Figura 3: Espectro HSQC de Bortezomib en cloroformo deuterado. Se indican en **círculos celestes** las correlaciones entre los protones y carbonos de los metilos (CH_3) y en **círculos verdes** las correlaciones entre los protones y carbonos en el anillo aromático.

las señales cruce entre el espectro de hidrógeno (abscisas) y el espectro de carbono (ordenadas).

A título de ejemplo se muestran en la Tabla 2 la asignación de señales para los átomos de H y C en la molécula de Erlotinib.

H	Desplazamiento químico (ppm)		C
2	8.80	149,0	2
		137,8	4
5	8.46	106,0	5
		150,0	6
		156,3	7
8	7.45	101,4	8
		107,9	9
		158,7	10
12 y 17	4.33 y 4.41	69,4 y 69,7	12 y 17
13 y 18	3.78	70,3 y 70,5	13 y 18
15 y 20	3.37	58,8 y 58,9	15 y 20
21	11.52		
		136,0	22
23	7.82	125,8	23
24	7.48	129,5	24
25	7.39	129,8	25
		122,5	26
27	7.90	128,1	27
		83,4	28
29	4.17	81,5	29

Tabla 2: Asignación de señales para Erlotinib

Conclusiones

Mediante la técnica de RMN se han podido caracterizar las estructuras y asignar los desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C , estos resultados forman parte de la información requerida por los laboratorios farmacéuticos para la aprobación de principios activos no codificados y necesaria para cumplir con los requisitos de los entes reguladores nacionales e internacionales.

Bibliografía

Breitmaier E., Voelter W. (1987). *Carbon-13 NMR Spectroscopy*. VCH.

Pretsch, E., Buhlmann, P., Affolter, C., Herrera, A., Martínez, R. (2001). *Determinación estructural de compuestos orgánicos*. Springer.