

利用太赫兹光谱和密度泛函理论研究烟酰胺-庚二酸共晶体的多晶型

肖田田, 唐汉秦, 张卓勇, 郭长彬, 王果*, 廖奕*

首都师范大学化学系, 北京 100048

摘要 烟酰胺, 又称为维生素 PP, 是辅酶 I 和辅酶 II 的组成部分, 是许多脱氢酶的辅酶。庚二酸是一种广泛使用的共晶体前体。烟酰胺与庚二酸形成的药物共晶体具有两种不同的多晶型, 分别为晶型 I 和晶型 II。不同的药物晶型常常具有不同的物理化学性质, 这些差异可能会对药物的溶出速率、稳定性以及药效具有较大影响, 因此在药物领域中寻找合适的技术手段鉴别药物的不同晶型非常重要。利用太赫兹时域光谱在室温下对烟酰胺-庚二酸的两种共晶体在 0.2~2.2 THz 范围内进行检测, 发现两者的特征吸收峰具有明显的差异, 晶型 I 在 1.51, 1.73, 1.94, 2.01 和 2.17 THz 有五个特征吸收峰, 其中在 1.94, 2.01 和 2.17 THz 处是三个吸收强度较大的峰, 而晶型 II 在 1.66, 1.74, 1.88, 2.02 和 2.16 THz 有五个特征吸收峰, 与晶型 I 不同的是在 2.02 和 2.16 THz 处有两个强度较大的吸收峰。利用密度泛函理论对烟酰胺-庚二酸两种共晶体进行理论计算, 计算结果表明实验峰与理论峰基本对应, 对吸收峰指认归属表明特征吸收峰来源于分子骨架的振动与包含氢键的振动。研究结果表明太赫兹时域光谱技术对于区分药物共晶体的多晶型现象具有重要的应用。

关键词 烟酰胺; 庚二酸; 共晶体; 多晶型; 太赫兹时域光谱; 密度泛函理论

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)05-1386-06

引言

烟酰胺(NA), 临床用于冠心病、病毒性心肌炎及少数洋地黄中毒等伴发的心律失常, 也可用于防治糙皮病等烟酸缺乏症^[1]。在制药工业中, 药物最主要的组成部分是活性药物成分, 大部分为固体, 比如盐化物、水合物和共晶等^[2]。其中共晶已经吸引了越来越多研究者的兴趣, 其可以优化固体剂量的理化性质, 改善可溶性、溶解速率、生物利用度和物理稳定性等等。一般来说, 共晶体被定义为含有两种或更多组分的晶体材料, 通过非共价键结合在一起^[3], 例如氢键、 $\pi-\pi$ 堆积、范德华力等等^[4]。有关研究表明 NA 可以与很多药物分子形成共晶体^[5-7], 并具有不同晶型。庚二酸(PA)可与 NA 通过氢键作用形成理想的药物共晶体, 所形成的共晶体具有两种不同的晶型, 也已经有文献所报道^[8](NA 和 PA 的分子结构如图 1 所示), 即具有同质异晶现象。同质异晶是指同一化合物在不同条件下质点(原子、分子或离子)排列的空间对称性不同, 其固态化合物具有两种或多种晶体结构的现象。在制药行业中检测与控制药物化合物不

同晶型是确保药物质量和药物疗效的一个重要环节, 因为不同晶型的药物化合物具有不同的物理、化学性质, 如熔点、密度、溶出速率和生物利用度等等^[9]。X 射线衍射、差式扫描量热法、核磁共振等上述传统方法常用于分析材料结构及其相应理化性质^[10-12], 然而, 利用太赫兹光谱对烟酰胺-庚二酸(NA-PA)共晶的多晶型未见报道。太赫兹时域光谱是最新的电磁波谱技术, 太赫兹波段位于微波和红外辐射之间, 属于远红外波段, 频率范围在 0.1~10 THz, 与大部分有机分子及基团的振动和转动能级之间跃迁的能量大致相当。太赫兹时域光谱具有很高的信噪比、灵敏度、无损、快速检测等优点, 可以安全地穿透样本, 不破坏样品, 同时不引起晶型的转变, 因此可以直接检测共晶形成中分子间的相互作用, 在药物领域是非常具有前景的分析技术^[13]。

在本工作中, 太赫兹光谱被用作 NA-PA 共晶物的表征手段, 利用密度泛函理论(DFT)理论计算它们的微观分子结构。理论计算与实验相结合是一种指认具有特定结构的药物分子振动模式的方法, 可以提供在微观分子水平上的固态材料结构的具体信息。在理论计算中, 由于药物分子间特别是在固体状态时常常具有氢键等分子间相互作用, 因此采用分

收稿日期: 2018-03-28, 修订日期: 2018-07-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(21203127), 北京市自然科学基金项目(2182012), 北京市教委科研基地建设项目资助

作者简介: 肖田田, 1992 年生, 首都师范大学化学系硕士研究生 e-mail: xiaotian_dream@163.com

* 通讯联系人 e-mail: wangguo@mail.cnu.edu.cn; 5732@cnu.edu.cn

子簇模型甚至是周期性结构模型才能正确地描述该共晶体系。与通常的理论计算相比,精度对于低频振动光谱是十分重要的,采用的方法模型、能量和结构优化的收敛限都会对这些具有较低能量的振动光谱造成影响。

我们制备了两种不同晶型的 NA-PA 共晶体,采用 THz-TDS 技术对两种不同晶型进行表征,运用周期性 DFT 对两种晶型进行计算,通过实验与理论计算结果对两种共晶体的特征峰进行振动模式归属,表明 THz-TDS 技术能够提供一种实验方法表征共晶体的多晶型。

1 实验部分

1.1 样品制备

原材料 NA 和 PA 从北京科友佳生物技术有限公司购

买,纯度均大于 95.0%,使用前没有经过进一步纯化。分别称取摩尔比为 1:1 的 NA 和 PA,在研钵中研磨五分钟,使其混合均匀。取一半混合物于无水乙醇(AR,分析纯)中,加热、超声使其完全溶解,在室温下缓慢蒸发得到共晶物晶型 I。取另一半混合物于无水甲醇(AR,分析纯)中,在 60 摄氏度的旋转蒸发器中蒸发至干得到共晶物晶型 II,压力和旋转叶轮的旋转速度分为设定为 250 mp 和 100 r·min⁻¹[8]。

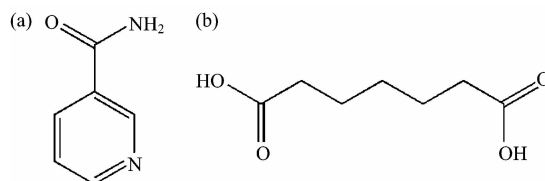


图 1 (a)NA 和(b)PA 的分子结构

Fig. 1 The molecular structure of (a) NA and (b) PA

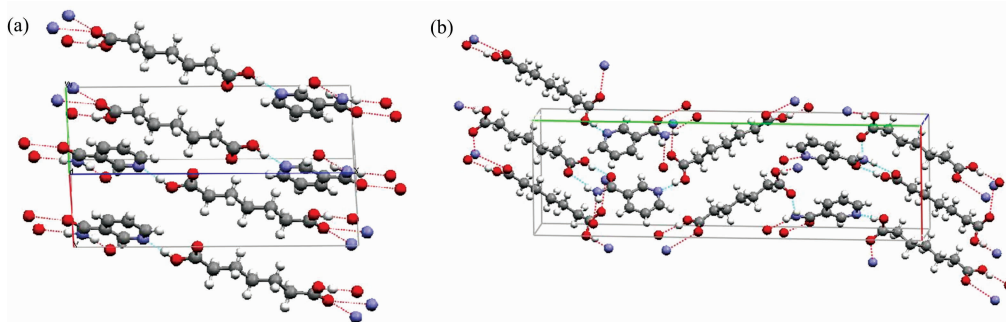


图 2 (a)晶型 I 和(b)晶型 II 的晶体结构

Fig. 2 The crystal structure of (a) form-I and (b) form-II

1.2 样品表征

X-射线多晶粉末衍射(XRD)和太赫兹时域光谱(THz-TDS)。采用 XRD 技术去验证两种不同共晶物的晶型。采用 THz-TDS 进行光谱测试,激发光源为钛蓝宝石飞秒锁模脉冲激光器,激光重复频率为 80 MHz,脉宽为 100 fs,中心波长为 800 nm,产生太赫兹脉冲的频率范围约 0.2~3 THz。样品制备参考了相关文献。得到直径为 13 mm 的无裂缝且两端面平行的样片,平均厚度约 1 mm。样品测试在室温下进行,分别测量两次,对测得的谱图求平均值。

1.3 计算方法

由于两种共晶体在晶体中存在弱的相互作用,因此使用包含了弱相互作用的 optB88-vdW 密度泛函^[14]以及 PAW 基函数。首先对晶型 I 和晶型 II 两种晶体结构^[8]进行结构优化,然后利用密度泛函微扰理论获得晶体的振动频率等信息,通过 Born 有效电荷获得太赫兹波段的吸收强度。

2 结果与讨论

从图 2 可以看出,两种共晶体中存在 NA-PA 分子间氢键,PA 一端的羧基中的一 OH 与 NA 吡啶环上的 N 形成一处氢键;NA 的酰基上的 O 与 PA 另一端羧基中的一 OH 形成第二处氢键;NA 环上的一 NH₂ 与 PA 另一端羧基中的酰基 O 形成第三处氢键。

由于 C—C 键转动的自由性,形成两种不同构象的共晶体。晶型 I 属于三斜晶系,每个晶胞含有一个 NA 和一个 PA 分子。每层 NA 和 PA 分子在同一个平面上,组成堆积结构。晶型 II 属于正交晶系,每个晶胞含有四个 NA 和四个 PA 分子,每两对 NA 和 PA 分子与另外两对分子边对面堆积,形成鱼骨状结构。堆积方式的不同和氢键的作用会导致不同的光谱特征。在图 3 中,两种晶型的 XRD 实验峰有明显的不同。为了确认获得的两种共晶体是否是预期不同的晶型,使用 Mercury 程序从单晶结构出发模拟了晶型 I 和晶型 II 的 XRD 衍射峰,通过对比发现,两种晶体的实验峰与晶型 I 和晶型 II 的理论模拟峰大致对应。其中晶型 I 在 27° 处实验峰比理论峰稍前移,可能是 X 射线多晶粉末衍射中多晶粉末衍射制样晶粒大小改变,会导致峰位偏移,同时会引起衍射峰强度的改变,但特征峰与理论峰出峰位置 2θ 值基本对应,可以推断实验中获得的晶体确为晶型 I 和晶型 II。

由于堆积结构的影响,两种晶型在 0.1~2.2 THz 范围内的太赫兹光谱也呈现明显的差异。晶型 I 在 1.51, 1.73, 1.94, 2.01 和 2.17 THz 存在特征吸收峰,对应理论吸收峰 2.59, 2.97, 3.34, 3.57 和 3.97 THz。晶型 II 在 1.66, 1.74, 1.88, 2.02 和 2.16 THz 存在特征吸收峰,对应理论吸收峰 2.11, 2.32, 2.72, 2.87 和 3.09 THz。值得一提的是晶型 I 和晶型 II 在 0.2~1.0 THz 出现低频区信号震荡,是由于目前仪器技术上的限制等的原因,不过幸运的是,这些

振荡的信号强度弱于其他峰,不影响特征峰的指认。虽然晶型 I 在 1.0~1.5 THz 范围也存在吸收峰,且能与两个理论计算峰对应,但此范围内吸收峰强度太小,不利于指认和鉴别。对于晶型 II,情形也类似。晶型 I 和晶型 II 谱峰最明显差异出现在 1.5~2.2 THz 内,可用于鉴别。由图 4 实

验谱图可得,在 1.5~1.9 THz 范围内,晶型 I 具有两个吸收强度较小的峰,而晶型 II 具有三个峰;在 1.9~2.2 THz 范围内,晶型 I 有三个吸收强度较大的特征峰,而晶型 II 只有两个吸收强度较大的特征峰,这可以作为鉴别两种不同晶型共晶体的主要依据。

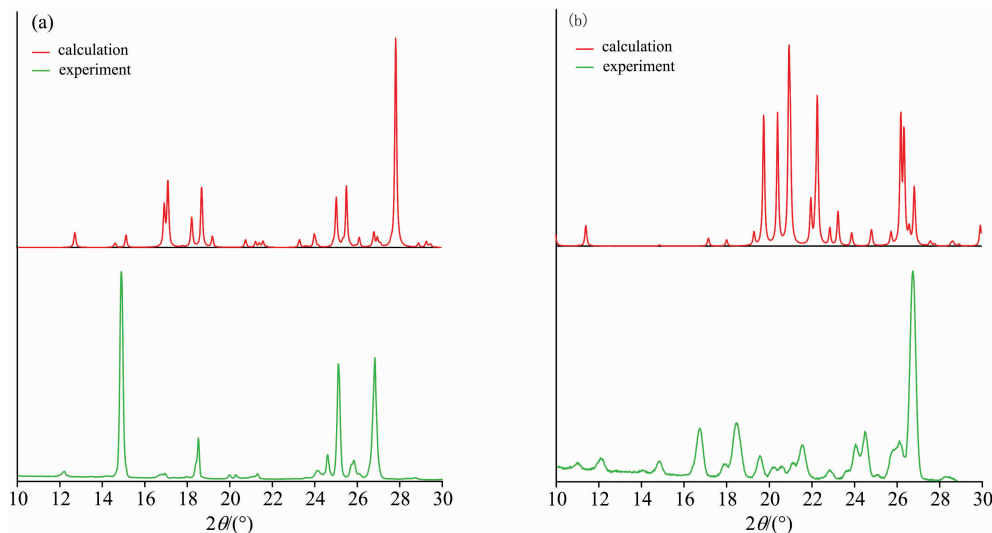


图 3 (a)晶型 I 和(b)晶型 II 的 XRD 谱和理论模拟谱

Fig. 3 Experimental and simulated X-ray diffraction patterns of (a) form- I and (b) form- II

通过理论计算得到的太赫兹谱图如图 4 所示。为了得到实验与理论计算对比图,将理论计算得到的特征吸收峰拟合得到平滑曲线,主要吸收峰的数目与实验结果一致,其对应关系如表 1 中所示。如图 4 所示,晶型 I 实验中吸收峰的吸收强度逐渐增加,第四个吸收峰达到最大吸收,在第五个吸收峰时稍有下降,这与理论计算得到的五个吸收峰的趋势一致。晶型 II 实验中吸收峰的吸收强度依次递增,第五个是最大吸收峰,而在理论计算中,前三个峰的吸收强度大于后两个的吸收强度,这与实验有所差别,但都是吸收强度较大的峰,并不影响指认。经实验与理论计算对比可见,理论计算所得到的峰位置比实验峰普遍偏向高频方向偏移,这能够通过温度效应和非谐效应来解释。通常为了达到快速检测的

目的,实验光谱是在常温下进行的,而通过 DFT 计算的频率对应绝对零度下的数值,有文献表明太赫兹光谱存在热效应^[17],即实验测量得到的谱峰随温度的降低而增强,温度对体系内的化学键,特别是氢键强度会造成影响。温度效应部分解释了理论计算得到的数值偏高的原因。幸运的是峰位置的平移是整体的,不影响各峰的相对位置,因此不影响理论计算对实验峰的指认。还有部分原因是采用的 optB88-vdW 密度泛函和 PAW 基函数本身的误差。虽然有频率校正因子,但是针对振动频率的校正多基于 Gauss 型基函数,而且也没有特别针对低频范围内,特别是针对非谐效应的校正因子,因此本研究未使用校正因子,这也带来了部分误差。

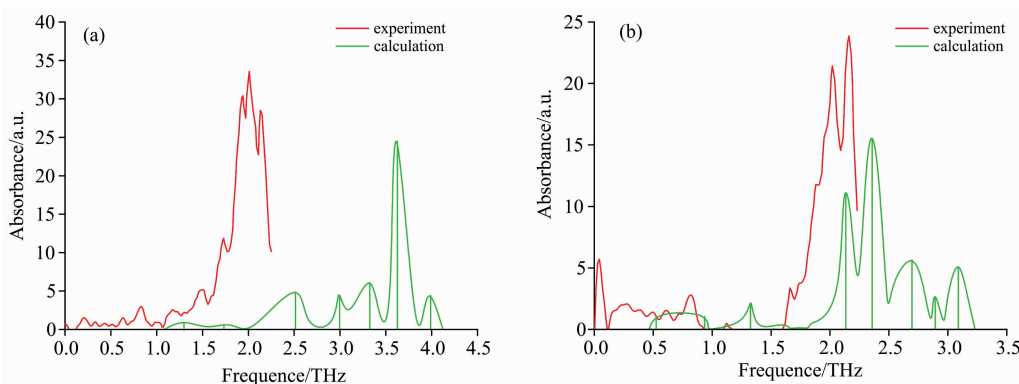


图 4 (a)晶型 I 和(b)晶型 II 的太赫兹光谱和理论计算谱

Fig. 4 Experimental and calculated terahertz spectra of (a) form- I and (b) form- II

表 1 晶型 I 和晶型 II 振动模式的归属
Table 1 Assignments of vibrational frequencies for Form- I and Form- II

Form	No.	Experiment	Calculation	Assignment
form-I	1	1.51	2.59	—COOH torsion NA out-of-plane twisting
	2	1.73	2.97	rotation between NA planes C chain out-of-plane twisting
	3	1.94	3.34	—CONH ₂ and —COOH out-of-plane wagging
	4	2.01	3.57	—CONH ₂ and —COOH out-of-plane twisting C chain out-of-plane twisting
	5	2.17	3.97	—COOH out-of-plane twisting C chain out-of-plane twisting
form-II	1	1.66	2.11	—COOH out-of-plane twisting NA out-of-plane twisting
	2	1.74	2.32	—COOH out-of-plane twisting C chain out-of-plane twisting
	3	1.88	2.72	—CONH ₂ out-of-plane twisting —COOH out-of-plane twisting
	4	2.02	2.87	—COOH out-of-plane twisting —CONH ₂ out-of-plane twisting
	5	2.16	3.09	—CONH ₂ and —COOH out-of-plane wagging C chain out-of-plane twisting

分子在太赫兹低频波段的振动主要源于多个原子参与的变形振动、扭转振动、弯曲振动和包含氢键在内的分子的相对运动。在对实验峰的指认中,因为在理论计算中存在个别吸收峰由多个振动模式合并产生,在表 1 中只列出了吸收强

度最大的振动模式。将这些用 VASP 程序获得的振动模式经过处理后,用 GaussView 程序将其图形化,如图 5、图 6 所示。

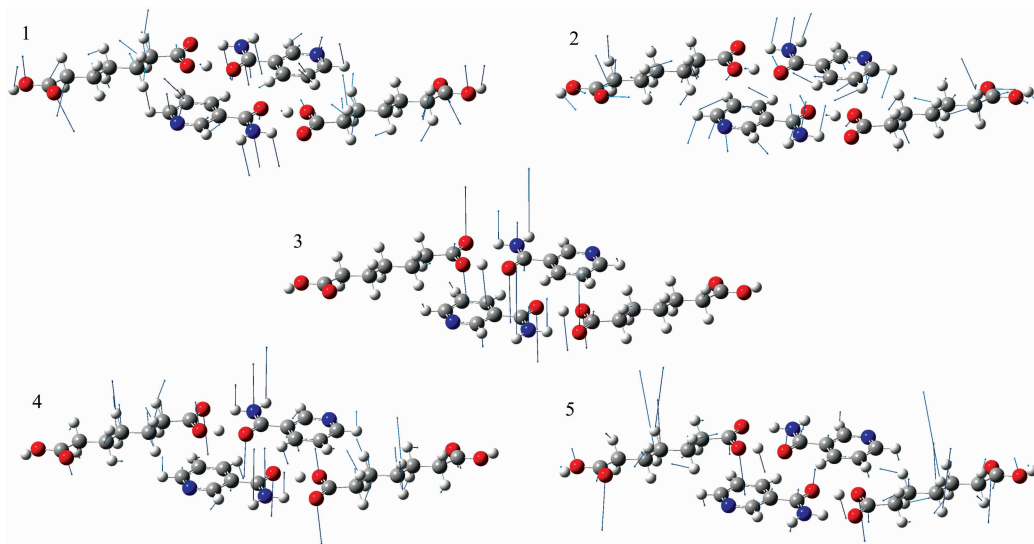


图 5 晶型 I 的振动模式(1—5)分别对应第一至第五个吸收峰

Fig. 5 Vibrational modes of form- I for 1st to 5th absorption peaks

在低频范围内,除了分子本身的振动外,主要表现出以分子间氢键为中心的振动以及分子骨架的整体振动。晶型 I 第一个吸收峰是主要是 PA 上其中一端羧基的扭转振动,记作 —COOH torsion,另外一端的羧基和 NA 分子形成分子间氢键,扭转并不明显;另外还有 NA 分子的面外扭曲振动,记作 NA out-of-plane twisting。第二个吸收峰是相邻 NA 分子平面的相对旋转和 PA 分子碳链的面外扭曲振动,记作

rotation between NA planes 和 C chain out-of-plane twisting。第三个吸收峰是 NA 与 PA 形成的分子间氢键的面外摇摆振动,记作 —CONH₂ and —COOH out-of-plane wagging。第四个吸收峰一是 NA 与 PA 形成的分子间氢键的面外扭曲振动和 PA 碳链的面外扭曲振动,记作 —CONH₂ and —COOH out-of-plane twisting 和 C chain out-of-plane twisting。第五个吸收峰是 PA 羧基的面外扭曲振动和碳链的面外扭曲振动,

记作—COOH out-of-plane twisting 和 C chain out-of-plane twisting。

对于晶型 II，第一个吸收峰是 PA 分子中羧基的面外扭曲振动和 NA 分子的面外扭曲振动，记作—COOH out-of-plane twisting 和 NA out-of-plane twisting。第二个吸收峰是 PA 分子中羧基的面外扭曲振动和碳链的面外扭曲振动，记作—COOH out-of-plane twisting 和 C chain out-of-plane twisting。第三个吸收峰是 NA 分子中酰胺基团的面外扭曲

振动和 PA 分子中羧基的面外扭曲振动，记作—CONH₂ out-of-plane twisting 和—COOH out-of-plane twisting。第四个吸收峰是 PA 分子中羧基的面外扭曲振动和 NA 分子中酰胺基团的面外扭曲振动，记作—COOH out-of-plane twisting 和—CONH₂ out-of-plane twisting。第五个吸收峰是 NA 与 PA 形成的分子间氢键的面外摇摆振动和 PA 碳链的面外扭曲振动，记作—CONH₂ and —COOH out-of-plane wagging 和 C chain out-of-plane twisting。

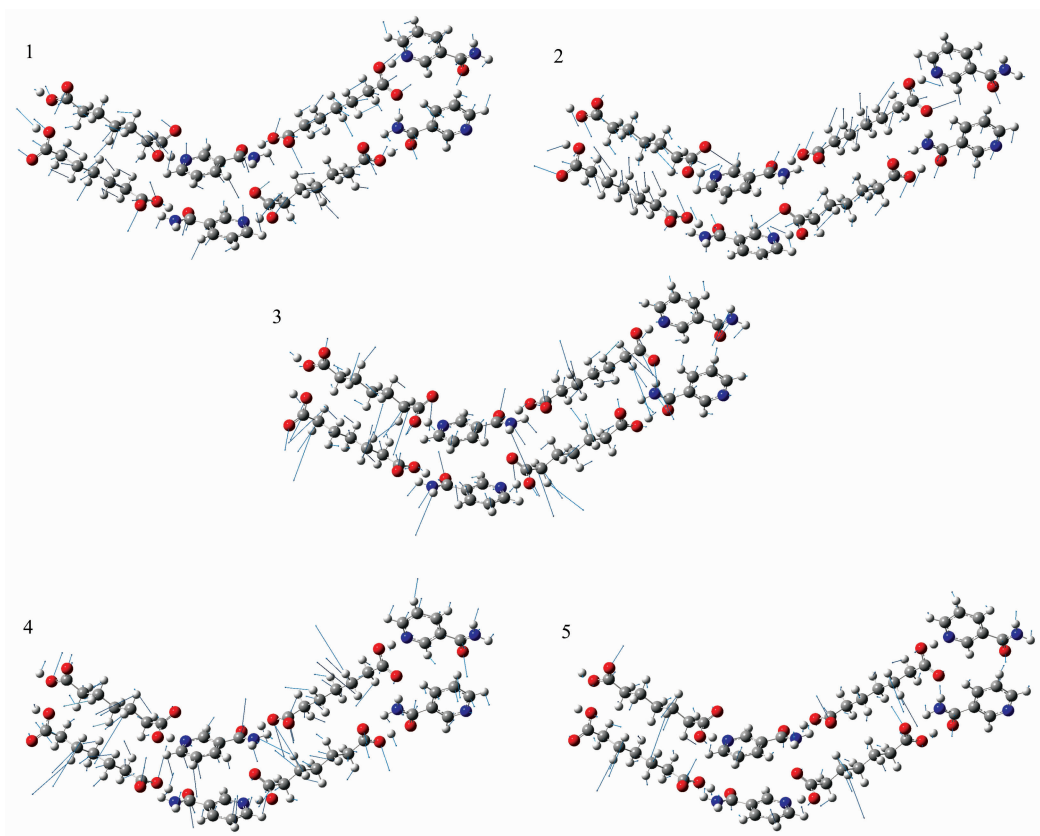


图 6 晶型 II 的振动模式(1—5)分别对应第一至第五个吸收峰
Fig. 6 Vibrational modes of form-II for 1st to 5th absorption peaks

根据实验及计算结果可知，氢键的形成和不同的堆积结构使得 NA 和 PA 分子形成的共晶体具有不同的内部结构，并且在两种共晶体中的 NA 和 PA 分子各自的振动模式下相互影响，因而体现出不同的特征吸收谱。

3 结论

使用 THz-TDS 技术在室温下对 NA-PA 两种不同晶型的共晶体在 0.2~2.2 THz 范围内进行表征和分析，由于氢键的作用和不同的堆积结构，发现两者特征吸收峰具有很大的差异。特别地，在 1.9~2.2 THz 范围内，是吸收强度最大的区域，两种共晶体主要特征峰具有明显的差异，晶型 I 有三个吸收强度较大的特征峰，而晶型 II 只有两个吸收强度较

大的特征峰，该处的显著区别可以用于两种晶型的鉴别。利用 DFT 对晶型 I 和晶型 II 两种晶型进行结构优化与光谱计算，并利用 Gaussview 程序对特征峰进行了归属和分析。理论特征峰的数量和形状与实验特征峰能够基本一一对应，峰频率上的误差来源于计算方法的误差、温度效应以及非谐效应。通过实验和理论结合的方法，得出 NA-PA 两种共晶体在此低频范围内的振动模式除了分子骨架的整体振动、PA 分子中的羧基和 NA 分子中的酰胺基的面外扭曲振动外，还有包含分子间氢键的振动。这一结果表明利用太赫兹光谱技术可以为检测 NA-PA 共晶体提供实验依据和理论参考，同时表明太赫兹光谱技术在检测和分析药物共晶体中的同质多晶现象具有巨大的应用前景。

References

- [1] Revollo J R, Grimm A A, Imai S. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2007, 23(2): 164.
- [2] Bruni G, Maietta M, Maggi L, et al. *J. Pharm. Sci.* 2013, 102(11): 4079.
- [3] Almarsson O, Zaworotko M. *J. Chem. Commun.*, 2004, 35(50): 1889.
- [4] Schultheiss N, Newman A. *Cryst. Growth. Des.*, 2009, 3(9): 2950.
- [5] Lu J, Rohani S. *Org. Process. Res. Dev.*, 2009, 7(1): 62.
- [6] Seefeldt K, Miller J, Alvarez N F, et al. *J. Pharm. Sci.*, 2007, 96(5): 1147.
- [7] Utto T, Takata N, Muroyama N, et al. *Cryst. Growth. Des.*, 2012, 12(1): 485.
- [8] Srinivasulu A, Wong A B H, Chow P S, et al. *Cryst. Eng. Comm.*, 2012, 14(23): 8193.
- [9] Wang H R, Zhang L T, Wang Q, et al. *J. Chromatogr. B*, 2006, 835(1-2): 71.
- [10] Dong Z, Jr Y V, Sheth A, et al. *Pharm. Res.*, 2002, 19(10): 1549.
- [11] Djellouli F, Dahmani A, Hassani A. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2017, (130): 1585.
- [12] Zanolla D, Perissutti B, Passerini N, et al. *Euro. J. Pharma. Biopharma.*, 2018, 127(7): 19.
- [13] ZHANG Qi, FANG Hong-xia, ZHANG Hui-li, et al(张 琪, 方虹霞, 张慧丽, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2017, 37(12): 3786.
- [14] Klimeš J, Bowler D R, Michaelides A. *J. Phys. Cond. Matt.*, 2010, 22(7): 22201.
- [15] Giannozzi P, Baroni S. *J. Chem. Phys.*, 1994, 100(11): 8537.

Terahertz Spectroscopic and Density Functional Theory Investigation on the Polymorph of the Cocrystals of Nicotinamide and Pimelic Acid

XIAO Tian-tian, TANG Han-qin, ZHANG Zhuo-yong, GUO Chang-bin, WANG Guo* , LIAO Yi*

Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100048, China

Abstract Nicotinamide, also known as vitamin PP, is component of coenzyme I and II, and it turns into a coenzyme for most of dehydrogenases. Pimelic acid has also been utilized previously as a cocrystal former. A cocrystal of nicotinamide and pimelic acid exists in two different polymorphic form-I and form-II. It is important to find a suitable technical means in the pharmaceutical field since the polymorphs have different physio-chemical properties which influence their solubility, stability and also other performance characteristics. The absorption spectra of nicotinamide-pimelic acid cocrystal were measured using terahertz time-domain spectroscopy ranging from 0.2 to 2.2 THz at room temperature, and the absorption peaks have obvious difference. Form-I and form-II have five characteristic absorption peaks at 1.51, 1.73, 1.94, 2.01, 2.17 THz and 1.66, 1.74, 1.88, 2.02, 2.16 THz, respectively. Form-I has three strong absorption peaks at 1.94, 2.01 and 2.17 THz, while form-II has two strong absorption peaks at 2.02 and 2.16 THz. Density functional theory was used to simulate the polymorphs of the nicotinamide and pimelic cocrystal. The calculated characteristic peaks were in accord with those in the experiments. The results showed characteristic absorption bands come from skeletal and hydrogen bond vibrations. This research suggested that terahertz time-domain spectroscopy technique is important for applications in solid-state analytical tools to distinguish polymorphs of cocrystal in pharmaceutical fields.

Keywords Nicotinamide; Pimelic acid; Cocrystal; Polymorph; Terahertz time-domain spectroscopy; Density functional theory

(Received Mar. 28, 2018; accepted Jul. 9, 2018)

* Corresponding authors