

马来酰肼多形态的太赫兹光谱研究

郑转平, 李爱东, 董军, 职言, 巩稼民

西安邮电大学电子工程学院, 陕西 西安 710121

摘要 分子的多形态(多晶型)是指化学组成相同但存在不止一种晶体形式的物质。这些多形态广泛存在于自然界中,其中药物的多形态尤其普遍。这些药物多形态虽然具有相同的化学分子组成,但其理化性质却存在差异,最终会导致药物作用功能的不同。近年来,随着太赫兹(THz)辐射源的产生方式成为一种常规技术后,太赫兹时域光谱技术(THz-TDS)的应用领域逐渐被拓宽。因为THz波不仅与分子内作用模式有关,更与氢键和范德华力等弱相互作用模式密切相关;THz辐射可以诱发低频键振动、晶体声子振动、氢键拉伸和扭转振动,许多有机分子的集体振动模式处于该波段,尤其是药物分子。基于此,采用THz-TDS技术,研究了马来酰肼药物分子两种多形态(MH2和MH3)在0.25~2.25 THz波段的THz吸收谱。通过实验测试,发现MH2和MH3的THz特征吸收峰完全不同,MH2获取到了三个特征吸收峰,分别位于0.34, 1.41和1.76 THz;MH3晶型获取两个特征吸收峰,分别位于0.75和1.86 THz处;此结果表明马来酰肼多形态可以通过其THz特征吸收峰进行鉴别表征。接着,为了对THz实验吸收峰进行解析,采用固态密度泛函理论(DFT)模拟了马来酰肼的红外吸收模式;在实验和理论频谱数据匹配的情况下,分析讨论了特征吸收峰的来源,发现MH2和MH3的THz吸收峰对其三维空间结构非常敏感,吸收峰均来源于分子间相互作用力。最后,为使药物研究能够与实际应用结合,对马来酰肼的商用药品青鲜素进行了THz光谱测试,通过其与马来酰肼多形态的THz吸收峰比较,发现人们日常使用的青鲜素是MH3晶型。此研究结果表明,THz-TDS技术是一种很有潜力的药物多形态检测工具,此研究有望解决马来酰肼多形态在工业生产及临床应用上检测难的问题。

关键词 太赫兹时域光谱;密度泛函;马来酰肼;药物分子多形态

中图分类号: O433.5 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)04-1104-05

引言

药物分子的多形态是指药物分子结构排列规律、分子构型或构象等方面存在差异。出现这种“同质异晶”现象的本质原因是化合物或者元素的生成条件或环境不同^[1],使得质点间的相互作用力以及结合能量不同,直接造成药物活性生化功能等方面产生差异^[2]。所以,解析药物的多形态现象,对于分析药物的稳定性、提高药物的生物利用度、减少毒性和增进疗效等方面都具有重要意义。

现阶段,光谱分析技术已被广泛用于表征晶型。然而,目前还没有一种方法能够完全有效的解决物质多态的筛选问题,也没有一种方法能够快速方便地确认药物在储存或生产过程中的晶体状态。传统用来表征多态性的技术有粉末X射线衍射法(PXRD)^[3-4]、近红外光谱法(NIR)^[5]和拉曼光谱

法^[6]等。虽然这些分析技术可以识别大多数多态性,但也有其局限性。例如:由于X射线具有有害的电离作用,在PXRD测量中应考虑其安全使用;在拉曼光谱中,由于需要高能激光照射,化合物会发生相变或产生化学反应。因此,无损低能量的光谱技术对药物多形态的检测至关重要^[7]。

太赫兹波处于中红外和微波波段之间,光子能量很低,不会对药物分子的作用模式产生影响,并且对固态分子之间的相互作用很敏感,近年来已成为一种研究多形态的分析工具。在其波源的产生方式成为一种常规技术以后,开始被应用于不同的领域^[8-9]。太赫兹时域光谱技术(Terahertz time-domain spectroscopy, THz-TDS),其是以THz波为载体的,在研究物质相互作用中,对分子间的相互作用力非常敏感,被认为是一种有潜力的鉴别多形态的光谱技术^[10-11]。

马来酰肼(maleic hydrazide, MH),又称为青鲜素和顺丁烯二酸酰肼。它对植物的生长有明显的抑制作用,可以作

收稿日期: 2021-04-06, 修订日期: 2021-05-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(11604263), 陕西省教育厅资助项目(16JK1698)资助

作者简介: 郑转平, 女, 1984年生, 西安邮电大学电子工程学院讲师 e-mail: zhengzhuangp@xupt.edu.cn

为农田的除草剂,也可以将其配成水溶液洒在一些蔬菜上延长植物的存储时间^[12]。Cradwick 和 Katrusiak 分别研究了 MH 的三种多形态 MH1, MH2 及 MH3, 确定了马来酰肼三种多形态的三维空间结构^[12-14]; Morzyk-Ociepa 研究了马来酰肼及其衍生物的红外吸收谱^[15]; Qu 等测试了马来酰肼 0.06~4 THz 的吸收谱^[16]。但截止目前,针对马来酰肼多形态 MH2 和 MH3 的 THz 谱的研究还没有相关报道,而研究药物多形态的 THz 光谱对药物晶型的辨别表征及其药品生化功能的揭示具有重大的现实意义。

以 MH2 和 MH3 两种多形态为研究对象,测试了两种多形态在 0.25~2.25 THz 范围的 THz 谱,比较了两种多形态的特征吸收峰异同;基于密度泛函理论,对 MH2 和 MH3 的光学模式进行了模拟计算,分析了分子作用模式对实验特征吸收峰的贡献,并对各个吸收峰的来源进行了归纳;最后,对马来酰肼的商用药品青鲜素进行了 THz 吸收谱测试,确定了商用马来酰肼药品的晶型。

1 实验部分

1.1 样品制备

MH2 和 MH3 购买于杭州领业有限公司,纯度为分析纯(99%);青鲜素药品生产于美国,所有药品使用之前均未曾经过进一步纯化处理。实验中,马来酰肼 MH2、MH3 晶型、青鲜素各取 300 mg,经过研钵研磨 7 min,在压片机 10 MPa 的压力下保持 5 min,制成直径为 13 mm,厚度为 0.7~1.1 mm,表面平滑且无裂痕的片剂。

1.2 仪器及参数

XRD 实验是在西北大学化学与材料科学学院进行测试的,使用的仪器是 D/Max2550VB+/PC 型 X 射线衍射仪。其中,X 射线源为铜靶(电压 40 kV,电流 40 mA),数据采集范围是 5°~50°。

MH2 的 THz 实验测试使用的是北京大恒的 THz-TDS 系统(型号: CIP-TDS)。具体的,飞秒激光振荡器(波长 800 nm,脉冲宽度 100 fs)产生超短激光脉冲,激发电导天线产生太赫兹脉冲,同时采用光电导天线探测;系统测试范围 0.1~2.7 THz,光谱分辨率 2.0 cm⁻¹。MH3 的 THz 光谱测试采用莱仪特太赫兹(天津)科技有限公司的(Advantest, TAS7500SU)光谱仪。其中,飞秒激光器(波长 800 和 1 550 nm)产生超短激光脉冲,THz 脉冲产生和探测方式均为光电导天线;系统测试范围 0.5~6 THz,光谱分辨率 0.26 cm⁻¹。

1.3 方法

两种晶型主要采用固态密度泛函理论(density functional theory, DFT)对马来酰肼两种晶型的几何构型进行优化,继而计算其频谱特性。计算中,运用平面波赝势密度泛函理论,采用局域密度泛函 PBE 泛函方法,平面波的截断能为 1 400 eV,常规保守赝势^[17-19]。具体的,能量偏差为 1.0×10⁻⁸ eV·atom⁻¹,最大位移偏差为 1.0×10⁻⁴ Å。MH2 和 MH3 的晶胞参数如下^[13-14]: MH2 空间群 P21/c(Z=14), a=6.891 Å, b=9.674 Å, c=6.946 Å, α, γ=90.00°, β=

100.07°,晶胞体积为 V=455.912 Å³; MH3 空间群 P21/n(Z=14), a=6.607 Å, b=6.907 Å, c=10.539 Å, α, γ=90.00°, β=104.00°,晶胞体积为 V=466.656 Å³。图 1 分别为 MH2 和 MH3 的分子结构(a)及晶胞结构(b)(c)。

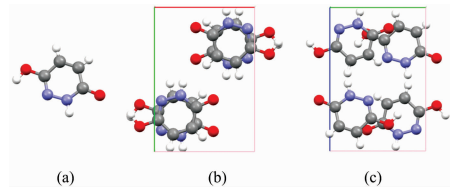


图 1 马来酰肼分子结构(a), MH2 晶胞结构(b)及 MH3 晶胞结构(c)

Fig. 1 The molecular structure (a), molecular arrangements of MH2 (b) and MH3 (c)

2 结果与讨论

图 2 是马来酰肼两种晶型的 X 衍射谱。在测试 THz 特征谱之前,为验证马来酰肼多形态的纯度,先测试了其 X 衍射谱,并与已存库数据进行了比较。其中,图 2 中(a)是本次 X 衍射实验结果,(b)为晶体库已保存的数据^[13-14]。通过比较发现, MH2 和 MH3 都为单斜晶体, MH2 为 P_{21/c}对称性, MH3 为 P_{21/n}对称性。从图 2 可以看出,测试结果与数据库的结构参数的匹配良好,确认了研究样品的晶型,为本文 THz 吸收谱的准确解析奠定基础。

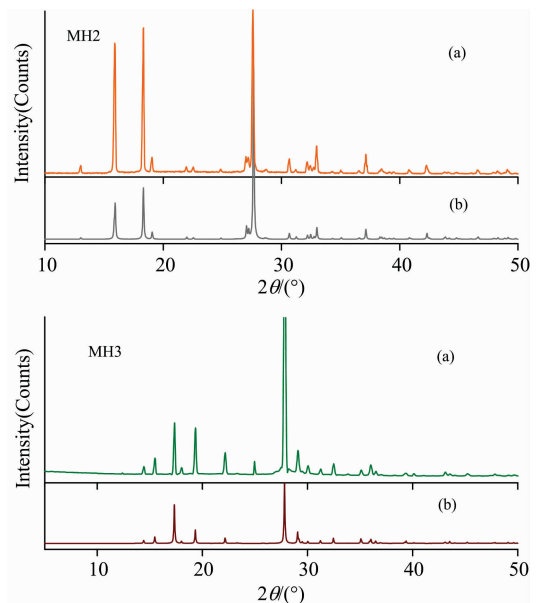


图 2 马来酰肼 MH2 和 MH3 的 X 衍射实验谱(a)及参考文献数据(b)

Fig. 2 The Powder XRD pattern (a) and the data previously published (b) of MH2 and MH3

图 3 为马来酰肼 MH2 和 MH3 两种晶型在 0.25~2.25 THz 范围的 THz 实验谱。MH2 实验测试获取了三个特征吸收峰,分别位于 0.34, 1.41 和 1.76 THz; MH3 获取了两个特征吸收峰,分别位于 0.75 和 1.86 THz 处。从实验谱测试

结果来看, MH2 和 MH3 的 THz 特征峰的峰位完全不同。此实验结果说明马来酰肼的多形态可以凭借其 THz 光谱进行辨别表征。Qu 等测试了马来酰肼 0.06~4 THz 的吸收峰, 获取了位于 2.34 THz 处的一个吸收峰^[16], 此结果无法确认其晶型, 且超出本文的研究范围, 故不对其进行讨论。此外, 本文 THz 实验中采用了两种测试范围不同的系统, 原因一是 MH2 低频有吸收峰(0.34 THz), 而 TAS7500SU 系统的测试范围是 0.5~6 THz; 二是 MH3 采用 CPI-TDS 系统测试的第二个吸收峰无法观测清楚。

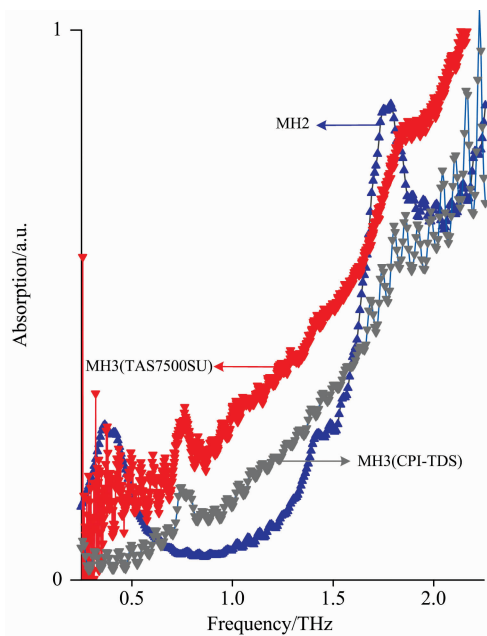


图 3 马来酰肼 MH2 和 MH3 的 THz 实验谱

Fig. 3 The experimental THz spectra of MH2 and MH3

由马来酰肼的结构参数可知, 其分子含有 13 个原子。由于单个分子没有对称性, 它的 33 个分子内振动模式均有红外活性。通过单个分子的量化模拟, 马来酰肼在 3.59 THz 处获得了最低频的分子内振动模式。此结果说明, MH2 (MH3) 在 3.5 THz 以下的吸收峰均来源于分子间相互作用。想要进一步解析 THz 吸收谱, 必须借助于以晶胞结构为计算模型的固态密度泛函。根据结构参数^[13-14], MH2 和 MH3 的晶胞均含有 4 个分子, 各自有 21 个(4Bu+5Au+6Ag+6Bg)分子间作用模式, 由于 C_{2h} 的群对称性, 其中 12 个分子间的模式具有红外活性。

图 4 是 MH2 和 MH3 的太赫兹实验及固态密度泛函理论计算的谱图。由图可见, 模拟结果能较好的对实验谱进行重构。说明固态理论是分析物质 THz 谱的有力工具。在 0.25~2.25 THz 范围内, MH2 和 MH3 都分别获得了 3 个具有红外活性的光学模式, 为了与实验谱进行更直观的比较, 理论数据采用半高宽为 0.15 THz 的洛伦兹函数进行了展宽。

在实验吸收峰和理论数据匹配情况下, MH2 和 MH3 的实验吸收峰的来源归纳如下: MH2 位于 0.34 和 1.41 THz 特征吸收峰来源于绕晶胞 c 轴的面外分子间转动; 1.76 THz

则来源于以 $N-H\cdots O$ 氢键弱相互作用为主的面内集体摆动。MH3 位于 0.75 THz 特征吸收峰来源于两个光学模式, 基于原子位移及模式中最大贡献量, 此吸收峰来源于面内转动; 位于 1.86 THz 的吸收峰来源于分子绕 a 轴的面外集体振动。

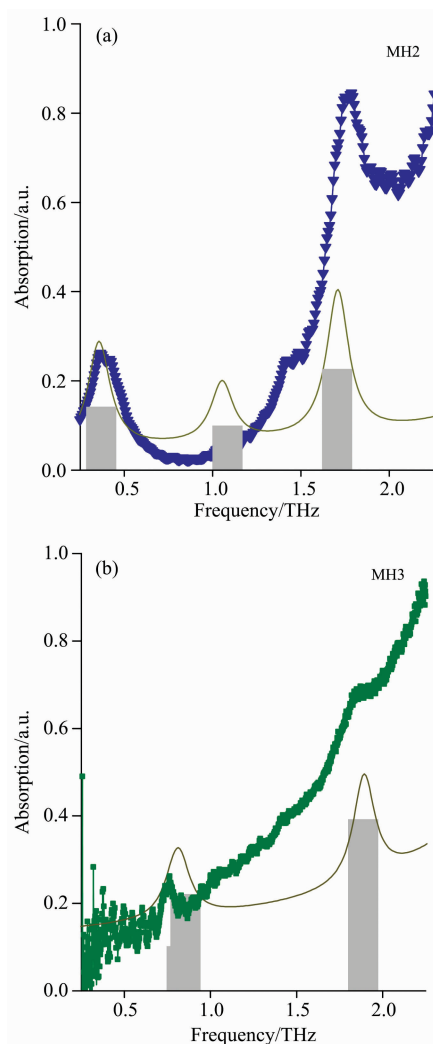


图 4 马来酰肼多形态 MH2 和 MH3 实验和固态模拟谱图

Fig. 4 The experimental and calculated spectra of MH2 and MH3

表 1 罗列了 MH2 以及 MH3 的实验 THz 吸收峰和理论计算的光学模式。尽管固态理论计算结果对 MH2 和 MH3 的 THz 吸收峰能够较好的进行解析, 但是固态计算中也出现了一些误差。例如: MH2 位于 1.41 THz 的理论计算光学模式位于 1.05 THz, 理论数值相较于实验频率向低频移动。这可能的原因是固态理论在这个模式处低估了体系的总能量。由于固态计算的优化环境与实验测试环境的差异, 理论计算数据与实验测试结果经常会出现一些偏差。一种改善的方法是提高计算中的截断能, 但截断能的提高会带来大量的运算成本^[20]。

为使药物 THz 光谱研究与实际应用相结合, 本文进一步测试了马来酰肼的商用药品青鲜素在 0.25~2.25 THz 范围内的吸收谱。图 5 为青鲜素和 MH3 晶型的 THz 实验谱。

表 1 MH2 和 MH3 的实验和理论计算结果 (THz)

Table 1 The calculated and experimental THz spectral data (THz) of MH2 and MH3

实验		理论
MH2	PBE	Assignment
0.34	0.36 (1.15) *	绕晶胞 <i>c</i> 轴面外转动
1.41	1.05 (0.65)	绕晶胞 <i>c</i> 轴面外转动
1.76	1.71 (1.56)	绕晶胞 <i>b</i> 轴面内集体摆动
MH3	PBE	Assignment
0.75	0.78 (0.07)	绕晶胞 <i>a</i> 轴面内转动
	0.82 (0.18)	绕晶胞 <i>b</i> 轴面内转动
1.86	1.89 (0.35)	绕晶胞 <i>a</i> 轴面外转动

注: * 指的是红外强度 ($\text{km} \cdot \text{mol}^{-1}$)

由图中可见, 青鲜素与 MH3 的两个 THz 吸收峰完全匹配, 说明了市面上使用的青鲜素是 MH3 晶型。此研究结果说明 THz 光谱仪不但可以辨别不同药品, 也可以对临床药物的晶型进行确认。此外, 发现青鲜素在 1.86 THz 处的吸收峰变得略显平滑, 这可能是由于商用药品中添加的其他辅料对马来酰胺纯度稀释造成的。

3 结论

采用 THz-TDS 系统, 在室温情况下测试了马来酰胺多形态 MH2 和 MH3 在 0.25~2.25 THz 范围的吸收谱, 结果表明这两种晶型的 THz 指纹谱信息完全不同, 证明通过 THz-TDS 技术可以对马来酰胺多形态进行辨别表征。结合固

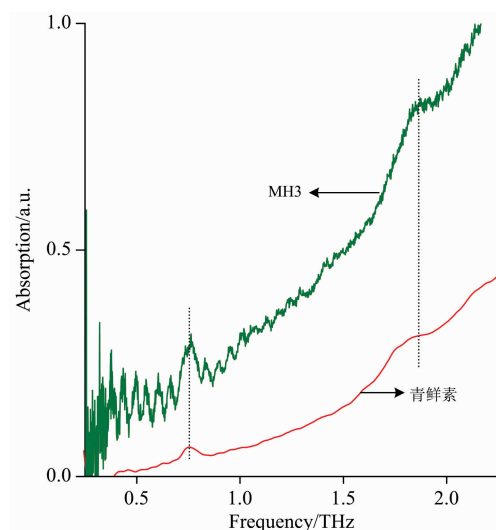


图 5 MH3 和青鲜素的 THz 实验谱
Fig. 5 The experimental THz spectra of MH3 and Qingxiansu (b)

态密度泛函理论对两种晶型的吸收峰来源进行了分析归纳。结果表明, MH2 和 MH3 在 0.25~2.25 THz 范围内的吸收峰皆来源于分子间的作用力。最后, 对商用药品青鲜素进行了 THz 光谱测试, 发现其吸收峰与 MH3 的 THz 特征峰匹配, 说明商用植物发芽抑制药品青鲜素主成分是 MH3。此结果说明药物多形态的 THz 光谱研究对药物晶型的辨认及其药品生化功能的揭示具有重大的实际意义。

References

- [1] Gandhi R B, Bogardus J B, Bugay D E, et al. International Journal of Pharmaceutics, 2000, 201(2): 221.
- [2] Khankari R, Chen L, Grant D. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1998, 87: 1052.
- [3] Suryanara Yanan, Herman C. Pharm. Res., 1991, 8: 393.
- [4] Phadnis N, Cavatur R, Husdon B, et al. J. Pharm. Biomed. Anal., 1997, 15: 929.
- [5] Patel A D, Luner P E, Kemper M S. Int. J. Pharm., 2000, 206(1): 63.
- [6] Takasuka M, Nakai H. Vib. Spec., 2001, 25: 197.
- [7] DU Yong, XIA Yan, TANG Wen-jian, et al (杜勇, 夏毅, 汤文建, 等). Infrared and Laser Engineering (红外与激光工程), 2014, 43(9): 2919.
- [8] Delaney S P, Witko E M, Smith T M, et al. Journal of Physical Chemistry A, 2012, 116(30): 8051.
- [9] CHEN Tao, CAI Zhi-hua, HU Fang-rong, et al (陈涛, 蔡治华, 胡放荣, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析) 2019, 39(3): 686.
- [10] Oppenheim K C, Korter T M, Melinger J S, et al. Journal of Physical Chemistry A, 2010, 114(47): 12513.
- [11] Taday P F, Bradley I V, Arnone D D, et al. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2003, 92(4): 831.
- [12] Cradwick P D. Journal of the Chemical Society Perkin Transactions, 1976, 2(12): 1386.
- [13] Katrusiak A. Acta Cryst., 1993, CA9: 36.
- [14] Katrusiak A. Acta Cryst., 2001, B57: 697.
- [15] Morzyk-Ociepa B. Vibrational Spectroscopy, 2008, 46(2): 115.
- [16] Qu F, Pan Y, Lin L, et al. Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves, 2018, 39: 1015.
- [17] Segall M D, Lindan P, Probert M J, et al. Journal of Physics—Condensed Matter, 2002, 14(11): 2717.
- [18] Perdew J P, Burke K, Ernzerhof M. Phys. Rev. Lett., 1996, 77: 3865.
- [19] Troullier N, Martins J L. Phys. Rev., 1991, B43: 1993.
- [20] Zhang B, Li S, Wang C, et al. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 190: 40.

Terahertz Spectroscopic Investigation of Maleic Hydrazide Polymorphs

ZHENG Zhuan-ping, LI Ai-dong, DONG Jun, ZHI Yan, GONG Jia-min

School of Electronic Engineering, Xi'an University of Posts and Telecommunications, Xi'an 710121, China

Abstract Polymorphs refer to substances with the same chemical composition but in more than one crystal form. These polymorphs exist widely in nature, especially in pharmaceuticals. These polymorphs have the same chemical molecular composition, but their physical and chemical properties are different, ultimately affecting the effect of pharmaceuticals. In recent years, with the generation of terahertz (THz) wave becoming a conventional technology, the application fields of terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS) has been gradually broadened. THz wave is related to intramolecular interaction mode and closely related to weak interaction modes such as hydrogen bond and van der Waals force. THz radiation can induce low-frequency bond vibration, crystal phonon vibration, hydrogen bond stretching and torsional vibration, and the collective vibration modes of many organic molecules are located in this region, especially pharmaceutical molecules. Thus in this paper, THz-TDS was used to study the THz absorption spectra of maleic hydrazide polymorphs (MH2 and MH3) in the range of 0.25~2.25 THz. The experimental results show that the THz absorption peaks of MH2 and MH3 are completely different. Specifically, MH2 has three characteristic absorption peaks, which are located at 0.34, 1.41 and 1.76 THz. MH3 has two characteristic absorption peaks at 0.75 and 1.86 THz. These results show that the polymorphs of maleic hydrazide can be distinguished and characterized by their THz absorption peaks. Then, to analyze the THz experimental peaks, solid-state density functional theory (DFT) is used to simulate. In matching experimental and theoretical spectral data, the origins of the THz absorption peaks are analyzed and discussed. The results suggest that the THz absorption peaks of MH2 and MH3 are very sensitive to their three-dimensional structures, and the absorption peaks all originate from intermolecular interactions. Finally, the THz spectra of the commercial tablets of maleic hydrazide were tested. By comparing the THz absorption peaks between MH2 (MH3) and Qingxiansu, it is found that the crystal form of Qingxiansu is MH3. This result shows that THz-TDS is a potential tool for detecting pharmaceutical polymorphism. Our research is expected to promote the detection of maleic hydrazide polymorphs in industrial production and clinical application.

Keywords Terahertz time-domain spectroscopy; Density functional theory; Maleic hydrazide; Pharmaceutical polymorph

(Received Apr. 6, 2021; accepted May 26, 2021)