

甘氨酸 α -晶型定向转化为 γ -晶型的影响因素研究

邹逢霞^{1*}, 陈飞飞¹, 朱颖¹, 俞金²

¹南通大学化学化工学院, 江苏 南通

²浙江大学医学院附属第一医院临床医学部, 浙江 杭州

收稿日期: 2021年7月29日; 录用日期: 2021年10月18日; 发布日期: 2021年10月22日

摘要

α -晶型甘氨酸产品性质不稳定, 易结块, 而 γ -晶型相对稳定。本文研究了 α -晶型定向转化为 γ -晶型的影响因素, 湿度、添加剂以及溶剂种类等。研究发现湿度越大越有利于 α -晶型的转化, 存在一个临界转化湿度; 盐类添加剂中, +1价金属离子有利于 α -晶型的转化, 在一定条件下均能转化为 γ -晶型, 阴离子和+2价金属离子均不会促进 α -晶型的转化。溶剂种类对转化的结果表明中性溶液不利于 α -晶型, 在一定浓度的酸性或碱性溶液下, α -晶型也能定向转化为 γ -晶型。

关键词

甘氨酸, α -晶型, γ -晶型, 定性转化

Study on the Factors Affecting the Directional Conversion of α -Glycine to γ -Glycine Crystal

Fengxia Zou^{1*}, Feifei Chen¹, Ying Zhu¹, Jin Yu²

¹Department of Chemical and Chemistry College, Nantong University, Nantong Jiangsu

²Department of Clinical Pharmacy, The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou Zhejiang

Received: Jul. 29th, 2021; accepted: Oct. 18th, 2021; published: Oct. 22nd, 2021

*通讯作者。

文章引用: 邹逢霞, 陈飞飞, 朱颖, 俞金. 甘氨酸 α -晶型定向转化为 γ -晶型的影响因素研究[J]. 物理化学进展, 2021, 10(4): 202-208. DOI: 10.12677/japc.2021.104020

Abstract

α -form glycine is not stable and easy to agglomerate, however γ -form glycine crystal structure is relatively stable. In this paper, the factors of humidity, additives and solvent types, affecting the orientation conversion of α -crystal form to γ -crystal form are studied. Results of humidity experiments show that higher humidity contributes to the transformation from α to γ form, also existed a critical humidity for transformation. In addition, salt additives experiments show that +1 valence metal ions are advantageous to the α -crystal shape transformation, under certain conditions can be converted into γ -crystal type, yet anion and +2 valence metal ions have little influence on the transformation process. Results of solvent type on the transformation show that neutral solution has little influence on the transformation, acid or alkaline solution under certain concentration forms the α -form convert to γ -form.

Keywords

Glycine, α -Form, γ -Form, Directional Conversion

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

多晶型现象,普遍地存在于固体化合物中,在药物中尤为突出[1]。晶体结构的不同会导致产品理化性质上的差异,主要表现在溶解度、熔点、稳定性、溶出度以及生物利用度等方面。晶型的差异会直接影响制剂的工艺以及剂型。[2]美国雅培公司开发的用于治疗 HIV 的药物利托那韦,存在两种晶型[3] [4],晶型 I 稳定,无效,晶型 II 不稳定,但有效,晶型 II 在长期储存过程中会转化为稳定但无效的晶型,给雅培公司造成 2 亿美元的损失,该药物被迫下市。

甘氨酸是结构简单,晶型种类较多的一种氨基酸,常用为研究多晶型的模型药物[5]。目前报道的晶型有 6 种[6],其中 γ -晶型是常温常压下热力学最稳定晶型[7]。Fischer 等[8]在 1905 年发现了甘氨酸存在多晶型现象,以此为契机,发现了 α -型, γ -晶型于 1954 年由 Iitaka [9]发现。Murli 等[10]研究发现将 α -晶型加压至 23 GPa,发现了 δ -晶型,而 Dawaon 和 Goryainov [11]发现 β -晶型只要 0.8 GPa 的压力下就会转化为 δ -晶型。Boldyreva [12]和 Dawson [13]研究发现,对常温常压下稳定的 γ -晶型施与一定的压力,最终会转化为 ε -晶型。Xu 等[14]研究发现,将甘氨酸水溶液置于液氮中淬火冻结,会形成玻璃相,对此玻璃相加热至 209 K,发现了甘氨酸的第六种晶型。

甘氨酸各晶型之间能够相互转化,介稳晶型 α -晶型和 β -晶型均可以转化为稳定晶型 γ -晶型[15] [16],研究发现高温[7] [13]、高压有利于甘氨酸介稳晶型的转化,外加物理场如超声波[17]、激光[18]等对甘氨酸的转晶过程也有着一定的促进作用。目前市场上甘氨酸主要以亚稳晶型 α -晶型为主而且掺杂 γ -晶型,产品性质不稳定,容易结块,因此对产品理化性质以及储存带来问题。因此常温常压状态下甘氨酸各晶型之间的转化显得尤为重要。

本文从介稳晶型 α -晶型定向转化为 γ -晶型的问题出发,一方面考察湿度对甘氨酸各晶型之间的固-固转化,另一方面考察溶剂、添加剂等溶液环境对晶型转化的影响。主要考察了 0~94% RH 湿度对转化的影响,另外研究了 pH、添加剂以及不同溶剂对 α -晶型定向转化为 γ -晶型的转化效果的影响。

2. 实验与方法

2.1. 单晶培养

方法一:环境室温 10℃,配制甘氨酸饱和水溶液(纯度 $\geq 98\%$,阿拉丁),室温下静置缓慢蒸发,经过 3 d,可自发成核生成小的单晶颗粒,再过 7 d 左右的时间,小颗粒又继续生长后,取出测样。

方法二:在饱和甘氨酸水溶液中加入氨水,用 pH 计测定溶液的 pH = 8.0,调节恒温水浴锅为 30℃,将饱和溶液置于水浴锅中,开启搅拌,使溶液充分混合,取上层清液于安剖瓶中,静置于室温为 10℃ 的环境下,7 d 后,发现有晶体析出。

2.2. 湿度对晶型转化的影响

称取一定量 α -晶型甘氨酸产品置于扁平称量瓶中,配置室温下 K_2CO_3 (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), NaBr (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), NaCl (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), KBr (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团)的饱和盐溶液,置于玻璃干燥器中,另外准备干燥的 P_2O_5 置于干燥器中,将称取的 α -晶型甘氨酸置于不同湿度环境中,称量其质量的变化,并对最终的 α -晶型甘氨酸进行表征。

2.3. 添加剂对晶型转化的影响

称取一定量的 α -晶型甘氨酸产品至水溶液中,调节水浴锅到 40℃,配置成饱和溶液,在饱和溶液中加入一定 0.5 g NaCl (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), Na_2CO_3 (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), $NaNO_3$ (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), KCl (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), $CaCl_2$ (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), $MgCl_2$ (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团), 所有溶液在水浴锅中保持 40℃ 左右并持续搅拌 3 天,结束搅拌后用真空泵减压抽滤,常温干燥。

2.4. 溶剂种类对晶型转化的影响

称取一定量的 α -晶型甘氨酸产品,调节水浴锅到 40℃,配置成乙醇(AR, $\geq 95\%$, 国药集团)、氯仿(AR, $\geq 99\%$, 国药集团)溶剂下饱和溶液,由于甘氨酸难溶于乙醇、氯仿,因此会有很多固体并没有溶解。水浴锅中保持 40℃ 左右并持续搅拌 3 天,结束搅拌后用真空泵减压抽滤,常温干燥。

称取定量的 α -晶型甘氨酸产品至水溶液中,调节水浴锅到 40℃,配置成饱和溶液,在饱和溶液中加入 0.1 mol/L 的 NaOH (AR, $\geq 96\%$, 国药集团), $NH_3 \cdot H_2O$ (AR, 26%~28%, 国药集团)或者 HCl (AR, 36%~38%, 国药集团), HAc (AR, $\geq 99.5\%$, 国药集团)到一定的 pH 值来碱化或酸化水溶液,水浴锅中保持 40℃ 左右并持续搅拌 3 天,结束搅拌后用真空泵减压抽滤,常温干燥。

3. 结果与讨论

3.1. 单晶培养结果

对方法一和方法二所培养的单晶进行粉末衍射,得到的结果分别如图 1 所示。根据文献报道,甘氨酸有六种多晶型[19],研究发现,方法一培养出的单晶属于 α -晶型,特征峰主要在 30°,方法二培养出的单晶属于 γ -晶型,特征峰主要在 25°。

3.2. 湿度对晶型转化的影响

配置的不同饱和溶液在室温 15°C 下的相对湿度如表 1 所示。在干燥环境下 α -晶型的甘氨酸转化后的结果如图 2 所示, 特征衍射峰并未发生变化, 配置的不同饱和溶液在室温 15°C 下的相对湿度如表 1 所示。在干燥环境下 α -晶型的甘氨酸转化后的结果如图 2 所示, 特征衍射峰并未发生变化,

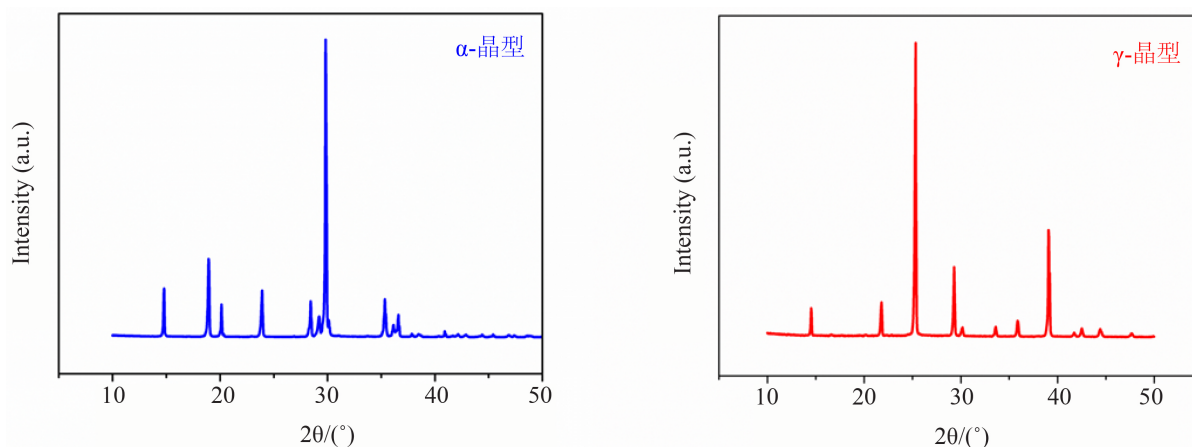


Figure 1. XRD Powder of α -form and γ -form

图 1. α -晶型和 γ -晶型 XRD 粉末衍射图

Table 1. Relative humidity of different kinds of saturated solutions

表 1. 不同种类的饱和溶液的相对湿度

饱和溶液	P ₂ O ₅	K ₂ CO ₃	NaBr	NaCl	BaCl
时相对湿度(15°C, %)	0	45	57	75	93

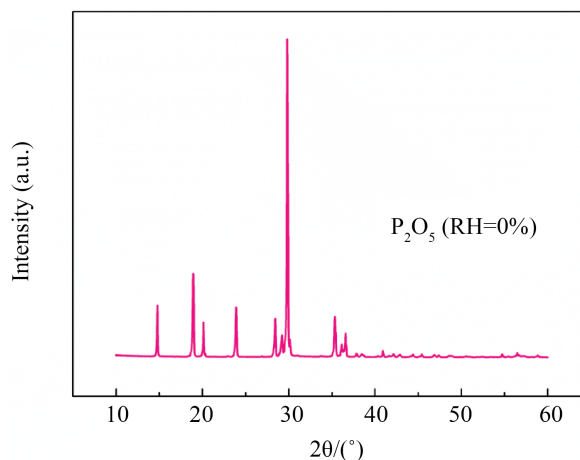


Figure 2. XRD Powder of α -form with the humidity of 0%

图 2. α -晶型在相对湿度为 0% 的环境中的粉末衍射图

其他湿度条件下转化的结果如图 3 所示, 单晶实验发现, α -晶型的特征衍射峰在 30°, γ -晶型的特征衍射峰在 25°, 从图 3 可以看出, 在 RH = 45% 饱和 K₂CO₃ 溶液中, α -晶型并没有发生转化, 随着湿度的不断增高, α -晶型转化的趋势比较明显, 比对标准图谱, 在一定的湿度条件下, α -晶型都存在定向转化

为 γ -晶型的趋势。随着湿度的增加， γ -晶型的特征峰越来越明显，而且强度越来越高。在 $RH = 93\%$ 的环境湿度下，甘氨酸晶体大部分转化成 γ -晶型，而在 NaCl 和 NaBr 饱和溶液得出相对湿度高的 NaCl 的饱和溶液的环境中，大多数的 α -甘氨酸晶转变为 γ -晶型，而相对湿度较低的 NaBr 饱和溶液中，少部分的 α -晶型已经转化为 γ -晶型。实验过程中，最终产品的显微镜片，如图 4 所示，从图中可以看出，颗粒细小的是原料 α -晶型，而出现大颗粒晶体的则是转化后的 γ -晶型，在环境湿度达到晶型湿度转化的临界相对湿度时，相对湿度越高，越容易发生转化，并不断从 α -晶型转化到 γ -晶型，并伴随着结块现象。

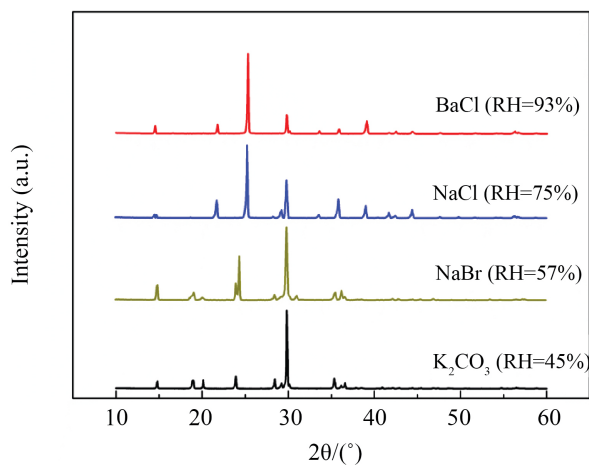


Figure 3. XRD after transformation under different humidity conditions

图 3. 不同湿度条件下晶型转化后的粉末衍射图谱

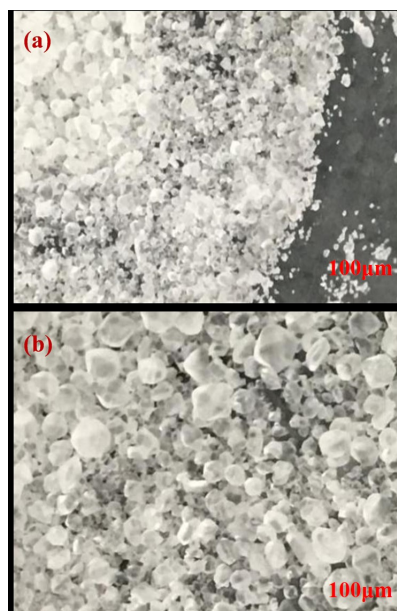


Figure 4. Picture of α -form transformation in NaBr (a) and BaCl (b) saturated solution

图 4. α -甘氨酸在 NaBr (a) 和 BaCl (b) 饱和溶液转化的晶体图

3.3. 添加剂对晶型转化的影响

α -晶型转化的最终结果如表 2 所示, 从表中可以得出, 阴离子对多晶型结晶没有明显影响, 而主要是阳离子起作用。镁离子, 钙离子这两个阳离子对 α -晶型没有抑制作用, 而钠离子和钾离子会对 α -晶型生长有强烈阻碍作用, 从而会结晶出 γ -晶型。说明钠离子和钾离子与 α -甘氨酸有特殊的相互作用, 在一定钠离子和钾离子浓度下就会抑制 α -晶型甘氨酸结晶生长。

Table 2. The influence of different additives of transformation results
表 2. 不同添加剂对晶型转化的影响

添加物质	晶型实验结果	添加物质	晶型实验结果
NaCl	γ	KCl	γ
NaCO ₃	γ	MgCl ₂	α
NaNO ₃	γ	CaCl ₂	α

甘氨酸在醇和氯仿溶液的中转化的结果如表 3 所示, 从表中可以看出, 在乙醇和氯仿溶液中, 未出现晶型的转变, 说明中性溶剂不影响甘氨酸的解离, 不会促进晶型转化。而在酸性或碱性溶液中, 均能够转化为 γ -晶型甘氨酸, 其原因在于甘氨酸是两性化合物, 酸化过程会使甘氨酸解离成 $-\text{NH}_3^+$, 降低了甘氨酸中 $-\text{COO}^-$ 显碱性的离子浓度, 同理碱化过程会使解离成 $-\text{COO}^-$, 则会降低甘氨酸中 $-\text{NH}_3^+$ 显酸性的离子浓度, 从而抑制了 α -晶型的生长, 在这种情况下, 对于 γ -晶型的生长环境就相对较好, 因而能正常生长, 随着两性离子浓度不断降低, γ -晶型就会不断生长。

Table 3. The influence of different solvents on the transformation of α -form glycine
表 3. 不同溶剂种类对 α -晶型甘氨酸晶型转化的影响

溶剂种类	晶型实验结果	添加物质	晶型实验结果
HCl	γ	CCl ₄	α
HAc	γ	NH ₃ ·H ₂ O	γ
CH ₃ CH ₂ OH	α	NH ₃	γ

4. 结论

本文在甘氨酸水溶液和氨水中培养的单晶为 α -晶型和 γ -晶型。本文研究了湿度、盐类添加剂、溶剂种类对 α -晶型定向转化为 γ -晶型的影响, 研究发现湿度越大越有利于 α -晶型的转化, 存在一个临界转化湿度, 当环境湿度小于临界转化湿度, α -晶型晶型不转化, 而大于临界转化湿度时, α -晶型则会定向转化为 γ -晶型。研究结果表明, +1 价金属离子有利于 α -晶型的转化, 在一定条件下均能转化为 γ -晶型, 阴离子和+2 价金属离子均不会促进 α -晶型的转化。另外研究发现, 中性溶液有利于 α -晶型的存在, 而在一定浓度的酸性或碱性溶液下, α -晶型也能定向转化为 γ -晶型。

基金项目

国家自然科学基金青年基金(21908114)南通市科技厅项目(J20181123)。

参考文献

- [1] 张奇, 梅雪峰. 固体药物的转晶现象[J]. 药学学报, 2015, 50(5): 521-527.

- [2] 陈佳星, 刘文举, 郭亚军, 卫宏远. 甘氨酸多晶型的研究进展[J]. 化学与生物工程, 2014, 31(11): 1-4.
- [3] Bauer, J.F., Saleki-Gerhardt, A., Narayanan, B.A., Chemburkar, S.R., Patel, K.M., Spiwek, H.O., Bauer, P.E. and Allen, K.A. (2014) Polymorph of a Pharmaceutical. US Patent No. 8674112 B2.
- [4] Chemburkar, S.R., Bauer, J., Deming, K., *et al.* (2000) Dealing with the Impact of Ritonavir Polymorphs on the Late Stages of Bulk Drug Process Development. *Orgprocresdev*, **4**, 413-417. <https://doi.org/10.1021/op000023y>
- [5] Huang, J., Stringfellow, T.C. and Yu, L. (2008) Glycine Exists Mainly as Monomers, Not Dimers, in Supersaturated Aqueous Solutions: Implications for Understanding Its Crystallization and Polymorphism. *Journal of the American Chemical Society*, **130**, 13973-13980. <https://doi.org/10.1021/ja804836d>
- [6] Vioglio, P.C., Mollica, G., Juramy, M., *et al.* (2018) New Insights into the Crystallization and Structural Evolution of Glycine Dihydrate by in-Situ Solid-State Nmr Spectroscopy. *Angewandte Chemie*, **130**, 6729-6733. <https://doi.org/10.1002/ange.201801114>
- [7] Bascom, L.C. (2001) The Polymorphism of Glycine. Thermochemical and Structural Aspects. *Journal of Thermal Analysis & Calorimetry*, **66**, 699-715. <https://doi.org/10.1023/A:1013179702730>
- [8] Wójcik, M.J. (1976) Theory of the Infrared Spectra of the Hydrogen Bond in Molecular Crystals. *International Journal of Quantum Chemistry*, **10**, 747-760. <https://doi.org/10.1002/qua.560100506>
- [9] Iitaka, Y. (1959) Crystal Structure of Beta-Glycine. *Nature*, **183**, 390-391. <https://doi.org/10.1038/183390a0>
- [10] Murli, C., Sharma, S.M., Karmakar, S., *et al.* (2003) α -Glycine under High Pressures: A Raman Scattering Study. *Physica B: Condensed Matter*, **339**, 23-30
- [11] Bull, C.L., Flowitt-Hill, G., De Gironcoli, S., *et al.* (2017) Zeta-Glycine: Insight into the Mechanism of a Polymorphic Phase Transition. *IUCrJ*, **4**, 569-574. <https://doi.org/10.1107/S205225251701096X>
- [12] Boldyreva, E.V., Ivashevskaya, S.N., Sowa, H., *et al.* (2009) Effect of Hydrostatic Pressure on the Γ -Polymorph of Glycine. 1. A Polymorphic Transition into a New Δ -Form. *Zeitschrift für Kristallographie—Crystalline Materials*, **220**, 1-6. <https://doi.org/10.1524/zkri.220.1.50.58886>
- [13] Dawson, A., Allan, D.R., Belmonte, S.A., *et al.* (2005) Effect of High Pressure on the Crystal Structures of Polymorphs of Glycine. *Crystal Growth & Design*, **5**, 1415-1427. <https://doi.org/10.1021/cg049716m>
- [14] Xu, W., Zhu, Q. and Hu, C.T. (2017) The Structure of Glycine Dihydrate: Implications for the Crystallization of Glycine from Solution and Its Structure in Outer Space. *Angewandte Chemie International Edition*, **56**, 2030-2034. <https://doi.org/10.1002/anie.201610977>
- [15] Hughes, C.E., Hamad, S., Harris, K.D.M., *et al.* (2007) A Multi-Technique Approach for Probing the Evolution of Structural Properties During Crystallization of Organic Materials from Solution. *Faraday Discussions*, **136**, 71-89. <https://doi.org/10.1039/b616611c>
- [16] Hamad, S., Hughes, C.E., Catlow, C.R.A., *et al.* (2008) Clustering of Glycine Molecules in Aqueous Solution Studied by Molecular Dynamics Simulation. *Journal of Physical Chemistry B*, **112**, 7280. <https://doi.org/10.1021/jp711271z>
- [17] 周甜, 钱刚, 周兴贵, 袁渭康. 超声波对甘氨酸溶析结晶过程的影响[J]. 过程工程学报, 2007, 7(4): 728-732.
- [18] Zaccaro, J., Matic, J., Myerson, A.S., *et al.* (2001) Nonphotochemical, Laser-Induced Nucleation of Supersaturated Aqueous Glycine Produces Unexpected Γ -Polymorph. *Crystal Growth & Design*, **1**, 5-8. <https://doi.org/10.1021/cg0055171>
- [19] Wildfong, P., Morley, N.A., Moore, M., *et al.* (2005) Quantitative Determination of Polymorphic Composition in Intact Compacts by Parallel-Beam X-Ray Powder Diffractometry Ii. Data Correction for Analysis of Phase Transformations as a Function of Pressure. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, **39**, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.03.003>