[Article]

doi: 10.3866/PKU.WHXB201412232

www.whxb.pku.edu.cn

腺嘌呤与富马酸共晶体的太赫兹光谱分析

方虹霞 张 琪 张慧丽 杜 勇* 洪 治

(中国计量学院太赫兹技术与应用研究所, 杭州 310018)

摘要: 利用太赫兹时域光谱(THz-TDS)技术在室温下对腺嘌呤、富马酸及两者的共晶体进行测量, 实验结果显示腺嘌呤与富马酸共晶体在 0.92、1.24、1.52 THz 处有明显的吸收峰, 与腺嘌呤和富马酸不同, 表明共晶体物相结构不同于原料. 根据腺嘌呤分子氢键供体与受体的结构特点, 使用密度泛函理论(DFT)对腺嘌呤与富马酸三种可能的共晶体结构进行模拟. 结果显示其中一种可能的共晶体结构在 0.89、1.16、1.41 THz 处存在特征吸收峰, 与实验结果较好吻合. 由此判断腺嘌呤与富马酸共晶体氢键形成位置为腺嘌呤的氨基与富马酸其中一个羧酸的碳氧双键形成氢键, 而此羧酸的羟基与腺嘌呤六元环上的邻位氮原子形成第二处氢键. 本文还结合理论模拟的结果对腺嘌呤与富马酸共晶体的特征吸收峰对应的相关振动模式进行了归属.

关键词: 腺嘌呤; 富马酸; 共晶体; 氢键; 太赫兹时域光谱; 密度泛函理论

中图分类号: O641; O657.3

Terahertz Spectroscopic Analysis of Adenine and Fumaric Acid Cocrystals

FANG Hong-Xia ZHANG Qi ZHANG Hui-Li DU Yong* HONG Zhi

(Centre for Terahertz Research, China Jiliang University, Hangzhou 310018)

Abstract: The absorption spectra of adenine, fumaric acid, and their cocrystal were measured using terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS) at room temperature. Experimental results show that they all have distinct fingerprint spectra in the terahertz region. The absorption peaks observed in the terahertz spectra of the cocrystal were at 0.92, 1.24, and 1.52 THz. These are very different from the corresponding reagents. Based on the characteristic hydrogen donor and/or acceptor behavior of adenine, density functional theory (DFT) was used to simulate three possible theoretical cocrystal structures with a focus on hydrogen bond formation between adenine and fumaric acid. The theoretical result shows that one of three possible simulated cocrystal structures had absorption peaks at 0.89, 1.16, and 1.41 THz, which is in agreement with the terahertz experimental result. Therefore, the structure of the cocrystal was confirmed wherein the first hydrogen bond is formed between the amino group of adenine and the hydroxyl group of fumaric acid. The second hydrogen bond is formed between the nitrogen atom of the nitrogen ring in adenine and the carbonyl group of fumaric acid. The characteristic absorption bands of the cocrystal between adenine and fumaric acid are also assigned based on the simulation results from the DFT calculation.

Key Words: Adenine; Fumaric acid; Cocrystal; Hydrogen bond; Terahertz time-domain spectroscopy; Density functional theory

Received: November 5, 2014; Revised: December 22, 2014; Published on Web: December 23, 2014.

*Corresponding author. Email: yongdu@cjl.u.edu.cn; Tel: +86-571-86875674.

The project was supported by the National Natural Science Foundation of China (21205110).

国家自然科学基金(21205110)资助项目

© Editorial office of *Acta Physico-Chimica Sinica*

1 引言

DNA 与许多化合物或天然小分子相互作用形成氢键,一直是化学治疗的热门研究方向,¹小分子通过插入沟槽或静电模式的方式与DNA结合已促进了多种新型抗癌²及抗菌³药物的发展.腺嘌呤作为DNA的一种碱基,它与其他小分子的相互作用也已被研究报道. Thompson等⁴使用X射线衍射技术检测了腺嘌呤与富马酸、马来酸及琥珀酸的共晶体; Byres等⁵使用X射线衍射技术发现腺嘌呤和质子化腺嘌呤能与2,6-二羟苯甲酸、3,5-二羟苯甲酸、己二酸等形成共晶体; Perumaila等⁶也检测了腺嘌呤与苯甲酸共晶体;此外,腺嘌呤还能与水杨酸、^{7,8}草酸、⁹等形成共晶体.观察以上共晶体可发现参与共晶形成的腺嘌呤包括9H腺嘌呤和7H腺嘌呤(如图1所示,“↑”表示氢键供体位置,“↓”表示氢键受体位置);¹⁰此外,水、甲醇等作为溶剂会参与氢键网络的构成,从而形成了含水共晶体或含甲醇共晶体,如腺嘌呤与2,6-二羟苯甲酸含水共晶体、⁵腺嘌呤与己二酸含甲醇共晶体⁸及腺嘌呤与草酸含水共晶体⁹等.溶剂参与氢键网络的构成会打断腺嘌呤与共晶形成物(CCF)之间的直接氢键形成,不利于进一步研究腺嘌呤与CCF之间的相互作用.

有关研究表明,9H腺嘌呤在气相中或水溶液中

图1 9H和7H腺嘌呤受体与供体的可能位置

Fig1 Possible positions of donor and acceptor for 9H and 7H adenine

是腺嘌呤同分异构体中最稳定的结构,¹⁰⁻¹²而9H腺嘌呤与7H腺嘌呤之间的能量差在气相中为29.3–33.5 kJ·mol⁻¹,而且在极性溶液中两者之间的能量差值会减少.^{13,14}针对上述问题,本实验采用极性低于水与甲醇的无水乙醇作为溶剂制备溶液共晶体,降低溶剂引起腺嘌呤异构体之间转变的可能性,同时制备研磨共晶体,与溶液共晶体对比,观察溶剂是否参与氢键形成.选用富马酸作为CCF与腺嘌呤形成共晶体,是基于富马酸包含双羧基,有利于与腺嘌呤的氢键受体、供体形成双位氢键,更易于氢键网络的形成.

太赫兹波段位于微波和红外辐射之间,其频段为0.1–10 THz (频率为1 THz的光子能量为4.1 meV),¹⁵与大部分有机分子及分子团的振动和转动能级之间跃迁的能量大致相当.相对于X射线衍射技术能量高,可能引起晶型转变的缺点,太赫兹时域光谱(THz-TDS)技术具有无损、快速检测的优点.近年来,太赫兹时域光谱技术已被用于共晶检测中.¹⁶⁻¹⁸

本文制备了以乙醇为溶剂的腺嘌呤与富马酸溶液共晶体和研磨共晶体,采用太赫兹时域光谱技术对腺嘌呤、富马酸与两者的溶液共晶体及研磨共晶体进行表征.通过谱图对比,确认了共晶体的形成,并分析乙醇是否参与了共晶体的氢键形成.运用密度泛函理论对腺嘌呤与富马酸共晶体形成的三种可能结构进行模拟,结合理论模拟结果确认共晶体结构,并对共晶体的特征峰进行振动模式归属.

2 实验

2.1 样品制备

腺嘌呤、富马酸均购于西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,纯度均大于99%,使用前未进行进一步的纯化.

2.1.1 溶液共晶体的制备

使用精度为0.0001 g的电子天平(BSA-124S,北京赛多利斯科学仪器有限公司)分别称取摩尔比为1:1的腺嘌呤及富马酸,将其溶于温热的无水乙醇中,冷却至室温,自然蒸发即可得到溶液共晶体样品.

2.1.2 研磨共晶体的制备

分别将两种药品在研钵中研磨成细小颗粒,然后使用电子天平称取摩尔比为1:1的腺嘌呤与富马酸,并利用漩涡混合器(QL-901,海门市麒麟医用仪器厂)震荡15 min,以确保混合充分,然后将样品放入行星式球磨机(QM-3SP04,南京大学仪器厂)内,

在频率 25 Hz 下研磨 120 min 获得研磨共晶体。

2.2 样品表征

THz-TDS 采用(美国 Zomega 公司)Z2 测量系统. 激发光源为 Spectra Physics 公司的钛蓝宝石飞秒锁模脉冲激光器, 激光重复频率 80 MHz、脉宽 100 fs、中心波长 800 nm. 使用 FW-4 型压片机(天津天光光学仪器有限公司)将样品在 4 MPa 的压力下压制直径为 13 mm、厚度为 1.5–1.7 mm 无裂缝且两端面平行的样片. 样品测试在室温下进行, 且使用氮气进行除湿, 使样品腔相对湿度保持在 0%。

3 理论计算

本文采用 Gaussian 03 软件¹⁹分别对腺嘌呤、富马酸及两者共晶体进行分子模拟, 选取密度泛函理论 B3LYP 方法,^{20,21} 结合基组 6-31G(*d,p*)进行理论计算. 模拟计算中, 首先进行结构优化, 再进行频率计算. 所有样品的计算结果没有出现虚频, 说明所有优化都找到了分子最小能量结构. 考虑到模拟中没有完全考虑电子相关作用和其对非简谐性效应的忽略, 以及基组选择等因素, 采用相应校正因子 0.96.²² 实验结果显示溶液与研磨共晶体的物相结构相同, 由此判断乙醇并未参与氢键形成. 根据上文分析及 Thompson 等⁴实验结果可确定参与共晶体氢键形成的是 9H 腺嘌呤. 同时依据氢键合成元(羧酸-羧酸、羧酸-吡啶、羧酸-酰胺、醇-吡啶、醇-胺)²³和 9H 腺嘌呤的氢键供体和受体的位置, 理论认为 9H 腺嘌呤与富马酸共晶体的单分子结构如图 2 所示, 图 2A 中 9H 腺嘌呤六元环的 N1 与富马酸羧基的—O1H 形成第一处氢键, 而这个羧基的 C1=O2 与 N10—H 形成第二处氢键, 由此形成腺嘌呤与富马酸共晶体的双位氢键; 图 2B 中富马酸的 C1=O2 与 N10—H 形成第一处氢键, 且此羧基的 O1H 与腺嘌呤五元环上的 N7 形成第二处氢键; 图 2C 中 C1=O2 与腺嘌呤五元环上的 N9—H 形成第一处氢键, 而 O1H 与腺嘌呤六元环上的 N3 则形成第二处氢键。

4 结果与分析

腺嘌呤与富马酸共晶体的太赫兹谱如图 3 所示. 图 3A 为腺嘌呤与富马酸溶液共晶体和其研磨共晶体的光谱结果比较, 从图中可看出腺嘌呤与富马酸溶液共晶体和其研磨共晶体在太赫兹谱图中特征峰出现的位置相同, 表明两者物相结构一致, 且说明了乙醇并未参与氢键的形成. 图 3B 为腺嘌呤与富马

图2 9H 腺嘌呤与富马酸三种共晶体理论晶型

Fig 2 Three theoretical structures of cocrystal between 9H adenine and fumaric acid

酸共晶体及其原料的太赫兹吸收谱对比. 由图 3B 可知, 相对于原料, 共晶体的太赫兹谱图在 0.92、1.24、1.52 THz 处都有明显的吸收峰, 与原料不同。

理论模拟与实验谱图对比如图 4 所示, 共晶体理论晶型 A 相对于另外两种共晶体理论晶型(B 和 C)的光谱模拟结果与实验所得共晶体太赫兹吸收谱图更相符. 共晶体理论晶型 A 的特征吸收峰位于 0.89、1.16、1.41 THz 处, 对应共晶的实验吸收峰位于 0.92、1.24、1.52 THz 处, 因此认为腺嘌呤与富马酸共晶体结构为理论模拟中的晶型 A 构型, 其结构如图 5 所示. 这一结果与 Thompson 等⁴使用 X 射线衍射检测所得结果一致. 氢键的形成对于分子内键长、键角的影响如表 1、2 所示(实验数据见文献^{24,25}), 氢键 N3—H4...O20 和 O21—H19...N6 的形成使得 N3—H4 的键长由 0.1007 nm 伸长至 0.1023 nm;

图3 腺嘌呤、富马酸及两者共晶体的太赫兹谱图

Fig 3 THz spectra of adenine, fumaric acid, and cocrystals

(A) solvent and grinding cocrystal; (B) adenine, fumaric acid, and cocrystal

图4 腺嘌呤与富马酸共晶体理论结构A型、B型、C型太赫兹吸收光谱与实验结果对比

Fig4 Comparison of experimental and form A, form B, form C theoretical THz absorption spectra of cocrystal between adenine and fumaric acid

(a) experimental result; (b) theoretical form A; (c) theoretical form B; (d) theoretical form C

C9...N6 的键长由 0.1345 nm 伸长至 0.1358 nm; O21-H19 的键长由 0.0972 nm 伸长至 0.1028 nm; 原子之间的键长变长使得原有振动模式的频率降

表1 腺嘌呤与富马酸中氢键的键长变化

Table 1 Change of hydrogen bond length between adenine and fumaric acid

Chemical bond	Bond length /nm				
	Experimental data		Calculation values		
	adenine ²⁴	fumaric acid ²⁵	adenine	fumaric acid	cocrystal
N3-H4	0.0877	—	0.1007	—	0.1023
C9...N6	0.1380	—	0.1345	—	0.1358
O21-H19	—	0.1080	—	0.0972	0.1028
C17-O21	—	0.1287	—	0.1355	0.1319

低, 即红移现象, 这也是共晶体的太赫兹谱图(图3)中0.92、1.24 THz处两个新峰产生的原因. 而C17-O21的键长则由0.1355 nm 缩短至0.1319 nm. 此外, 参与氢键形成的化学键角都有所增大, 从而也使得共晶体的振动光谱图区别于原料样品. 模拟和实验结果之间键长的差别和特征吸收峰存在少许偏移, 都是因为实验是在常温下进行的, 而理论模拟是在绝对零度下进行的, 没有考虑热效应; 且实验结果是整个晶格的振动, 而计算模拟仅仅针对单个共晶分子.

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、扭动振动和弯曲振动²⁶或氢键作用引起的相对振动, 且不同峰位的振动模式不同. 通过 GaussianView 的动态观察, 可对腺嘌呤与富马酸共晶体的振动模式进行大致的归属, 结果见表3. 腺嘌呤与富马酸共晶体在0.92 THz 处的吸收峰是由富马酸的碳链C23-C22=C16-C17集体面外摇摆振动和腺嘌呤的氨基H4-N3-H5面外摇摆振动共同引起的, 如图6(a)所示; 在1.24 THz处的吸收峰是由O25=C23-O26面内弯曲振带动共晶体的氢键O21-H19...N6振动, 并以O21-H19...N6为连接轴引起腺嘌呤分子面内弯曲振动所共同作用引起的, 如图6(b)所示; 在1.52 THz处的吸收峰则是由富马酸的两个羧基O25=C23-O26, O20=

图5 腺嘌呤与富马酸理论共晶体晶型A模拟优化结构

Fig5 Optimized structure of theoretical cocrystal form A between adenine and fumaric acid

表2 腺嘌呤与富马酸中氢键的键角变化
Table 2 Change of bond angle length between adenine and fumaric acid

	Bond angle/(°)				
	Experiment data		Calculation values		
	adenine ²⁴	fumaric acid ²⁵	adenine	fumaric acid	cocrystal
∠H5—N3—H4	123.6	—	120.7	—	121.2
∠C9—N6—C11	119.2	—	118.3	—	119.5
∠H19—O21—C17	—	112.2	—	106.1	117.8
∠O21—C17—O20	—	124.4	—	123.0	125.2

表3 腺嘌呤与富马酸共晶体的振动模式
Table3 Vibrational modes of cocrystal between adenine and fumaric acid

No.*	f/THz	Vibrational mode
a	0.92	C23—C22=C16—C17 torsion; H4—N3—H5 out of plane vibration
b	1.24	O25=C23—O26 in-plane bending vibration; O21—H19⋯N6 in-plane bending vibration
c	1.52	O25=C23—O26, O20=17C—O21 torsion; H4—N3—H5 out of plane vibration; O21—H19⋯N6 torsion

*Nos. a–c correspond to the vibrational modes shown in Fig.6.

图6 腺嘌呤与富马酸共晶体位于0.92, 1.24, 1.52 THz处的振动模式
Fig 6 Vibrational modes of cocrystal between adenine and fumaric acid at 0.92, 1.24, 1.52 THz

17C—O21 扭曲振动, 并以 O21—H19...N6 为轴使得腺嘌呤分子产生面外摇摆振动所引起的, 而腺嘌呤的 H4—N3—H5 面外摇摆振动加深了这一作用, 如图 6(c) 所示. 此外, 根据计算结果腺嘌呤与富马酸共晶体在 3.05 THz 处有一个以氢键 O21—H19...N6 为轴的两个分子共同作用的剪式振动所产生的吸收峰, 但在实验中由于仪器光谱有效频段范围的限制未能在实验谱图中体现.

根据实验及计算结果可知, 氢键的形成使得腺嘌呤分子与富马酸分子内部结构有一些变化, 且在各自的振动模式下受到对方的影响, 这也使得腺嘌呤与富马酸共晶体在太赫兹波段呈现出和原料完全不同的特征吸收谱.

5 结 论

使用 THz-TDS 技术在室温下对腺嘌呤、富马酸及两者的溶液和研磨共晶体进行表征和分析, 发现腺嘌呤与富马酸的溶液共晶体与研磨共晶体在 0.92、1.24 及 1.52 THz 处都有明显且区别于原料样品的吸收峰; 由于两种方法得到的物相结构一致, 从而说明乙醇作为弱极性溶剂并未参与氢键的形成. 采用密度泛函理论对腺嘌呤与富马酸由氢键作用而形成共晶体的三种可能结构进行结构优化与光谱模拟, 并将计算结果与实验结果进行对比, 发现其中共晶体理论晶型 A 的模拟结果与实验太赫兹谱图结果吻合度很高, 据此推断共晶体的氢键形成位置为腺嘌呤的氨基与富马酸其中一个羧酸的碳氧双键形成一处氢键, 而此羧酸的羟基与腺嘌呤六元环上的邻位氮原子形成第二处氢键. 该结论与 X 射线衍射结果一致. 为太赫兹光谱技术检测和解析共晶体结构及氢键作用提供了实验与理论参考.

References

- (1) Verma, R. P.; Hansch, C. J. *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97* (1), 88.
- (2) Ohara, K.; Smeitana, M.; Restouin, A.; Mollard, S.; Borg, J. P.; Collette, Y.; Vasseur, J. J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50* (26), 6465. doi: 10.1021/jm701207m
- (3) Song, Y. L.; Li, Y. L.; Wu, Z. Y. *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102* (9), 1691. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2008.04.005
- (4) Thompson, L. J.; Elias, N.; Male, L.; Tremayne, M. *Cryst. Growth Des.* **2013**, *13* (4), 1464. doi: 10.1021/cg301561j
- (5) Byres, M.; Cox, P. J.; Kay, G.; Nixon, E. *CrystEngComm* **2009**, *11* (1), 135. doi: 10.1039/b811243f
- (6) Perumalla, S. R.; Suresh, E.; Pedireddi, V. R. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2005**, *44* (47), 7752.
- (7) Du, L. C.; Zeng, W. L.; Liu, X. Y.; Jian, F. F. *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2009**, *65* (Suppl. 8), o1791.
- (8) Sridhar, B.; Ravikumar, K.; Varghese, B. *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* **2009**, *65* (Suppl. 5), o202.
- (9) McHugh, C.; Erxleben, A. *Cryst. Growth Des.* **2011**, *11* (11), 5096. doi: 10.1021/cg201007m
- (10) Hanus, M.; Kabelacek, M.; Rejnek, J.; Ryjacek, F.; Hobza, P. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (6), 2087. doi: 10.1021/jp036090m
- (11) Lin, J.; Yu, C.; Peng, S.; Akiyama, I.; Li, K.; Lee, L. K.; LeBreton, P. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102* (14), 4627. doi: 10.1021/ja00534a010
- (12) Dreyfus, M.; Dodin, G.; Bensauade, O.; Dubois, J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97* (9), 2369. doi: 10.1021/ja00842a011
- (13) Gu, J. D.; Leszczynski, J. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103* (15), 2744. doi: 10.1021/jp982713y
- (14) Huang, Y. Q.; Kentamaa, H. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108* (20), 4485. doi: 10.1021/jp0312767
- (15) Xu, J. Z.; Zhang, X. C. *Technology and Applications of Terahertz Wave*; Peking University Press: Beijing, 2007; pp 1–5. [许景周, 张希成. 太赫兹波科学技术与应用. 北京: 北京大学出版社, 2007: 1–5]
- (16) Du, Y.; Xia, Y.; Zhang, H. L.; Hong, Z. *Spectrochim. Acta A* **2013**, *111*, 192. doi: 10.1016/j.saa.2013.03.081
- (17) Nguyen, K. L.; Friscic, T.; Day, G. M.; Gladden, L. F.; Jones, W. *Nat. Mater.* **2009**, *6* (3), 206
- (18) Yang, C. X.; Wang, J.; Zhang, Z. W. *Spectrosc. Spec. Anal.* **2011**, *31* (9), 2476. [杨彩霞, 王 静, 张振伟. 光谱学与光谱分析, **2011**, *31* (9), 2476.]
- (19) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; et al. *Gaussian 03, Revision E.01*; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2004.
- (20) Axel, D. B. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
- (21) Scoot, P.; Radom, L. *J. Chem. Phys.* **1996**, *100*, 16502.
- (22) Zhao, R. J.; He, J. L.; Li, J.; Guo, C. S.; Du, Y.; Hong, Z. *Acta Phys. -Chim. Sin.* **2011**, *27* (12), 2743. [赵容娇, 何金龙, 李璟, 郭昌盛, 杜 勇, 洪 治. 物理化学学报, **2011**, *27* (12), 2743.] doi: 10.3866/PKU.WHXB20112743
- (23) Gao, Y.; Zhu, H.; Zhang, J. J. *Prog. Chem.* **2010**, *22* (5), 829. [高 缘, 祖 卉, 张建军. 化学进展, **2010**, *22* (5), 829.]
- (24) Brown, C. J. *Acta Crystallogr.* **1966**, *21*, 1.
- (25) Yu, B.; Zeng, F.; Yang, Y.; Xing, Q.; Chechin, A.; Xin, X.; Zeylikovich, I.; Alfano, R. R. *Biophys. J.* **2004**, *86*, 1649.
- (26) Perumalla, S. R.; Suresh, E.; Pedireddi, V. R. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2005**, *44*, 7752.