

还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的多晶型及其制法和用途

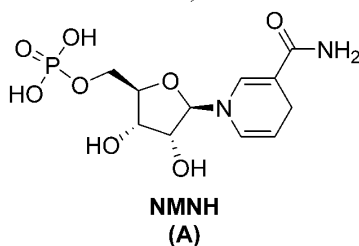
技术领域

本发明涉及医药、保健品和化妆品的化学原料领域，具体地涉及还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的多晶型及其制法和用途。

背景技术

作为抗衰领域最热门的分子之一，烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)毫不例外的成为了历代抗衰物质的中心。 NAD^+ 是超过500种酶促反应所需的一种重要辅酶，因其在氧化和还原中的作用而众所周知(Ansari和Raghava, 2010; Rajman等人, 2018; Stein和Imai, 2012)。越多的研究指示，增加 NAD^+ 当量可明显改善多器官功能，包括肝功能、肾功能、心脏功能和骨骼肌功能(Canto等人, 2012; Mills等人, 2016; Rajman等人, 2018)。 NAD^+ 可以在从头生物合成途径(*de novo biosynthesis pathway*)中使用色氨酸，在preiss-handler途径中使用烟酸(NA)，以及在补救途径(*salvage pathway*)中使用烟酰胺(NAM)、烟酰胺核糖苷(NR)和烟酰胺单核苷酸(NMN)来合成(Canto等人, 2015; Chiarugi等人, 2012; Johnson和Imai, 2018)。特别地，作为 NAD^+ 关键中间体，NAM、NR和NMN已经因为它们在许多小鼠疾病模型中的潜在治疗作用而被广泛地研究(Mills等人, 2016)，其中NMN被认为是当前最合适的 NAD^+ 前体，且目前NMN正在全球市场上热销，备受消费者的青睐。

NMNH(分子结构如式(A)所示)中文名称为“还原型烟酰胺单核苷酸”或“还原型 β -烟酰胺单核苷酸”，是NMN的还原形式，是一种补充 NAD^+ 的新前体，具有比NMN更好的 NAD^+ 促进作用以及其他的生物学功能如增加细胞抗氧化能力、减少脂肪积累、减少炎症反应和抑制肿瘤细胞生长等，是一种具有显著商业潜力的健康促进试剂(WO2021098725A1)。



NMNH的合成工艺市场上还处于实验室研发阶段，还不能实现工业化生产，主要技术难点：1)NMNH是NMN的还原形式，容易被空气氧化；2)在实验室只有通过制备色谱的方法才能得到纯度较高的水溶液，且需通过冻干的方法才能得到无定型固体，这种方法对产品无提纯效果，冻干得到的无定型固体为

泡沫状、流动性差、容易吸潮变为油、降解快；3)尚未有多晶型物报道。众所周知，工业上非必要不选用冻干技术，因为冻干需要高耗能且产能受限；无定型固体能量比晶体固体高、更不稳定。

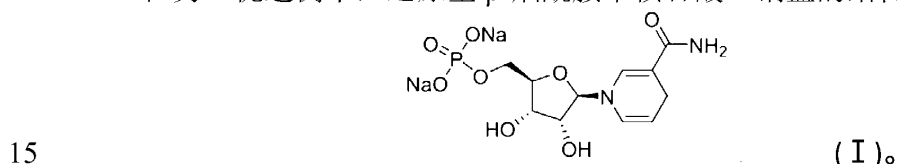
因此，本领域迫切需要开发新的具有稳定性好、流动性好、适合产业化等优点的NMNH类化合物及其多晶型物。

发明内容

本发明的目的在于提供新的具有稳定性好、流动性好、适合产业化等优点的NMNH类化合物及其多晶型物，即NMNH二钠盐的多晶型及其制备方法和用途。

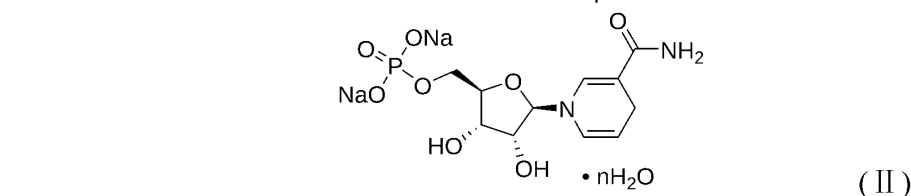
本发明的第一方面提供了一种还原型β-烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体，所述晶体的晶型选自下组：晶型A、晶型B、或晶型C。

在另一优选例中，还原型β-烟酰胺单核苷酸二钠盐的结构如式I所示：



在另一优选例中，所述的还原型β-烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体为水合物。

在另一优选例中，所述的还原型β-烟酰胺单核苷酸二钠盐的结构式如式II



式中，n为≥2。

25 在另一优选例中，n为整数或非整数。

在另一优选例中，n为≥2的正整数，较佳地为2-10，更佳地为5-9。

在另一优选例中，所述晶型A的XRPD图谱包括3个或3个以上选自下组的2θ值：12.7°±0.2°、15.9°±0.2°、18.0°±0.2°、20.4°±0.2°、20.9°±0.2°、31.8°±0.2°。

25 在另一优选例中，所述晶型A的XRPD图谱还包括1个或多个以上选自下组的2θ值：10.5°±0.2°、19.8°±0.2°、22.6°±0.2°、24.0°±0.2°、26.1°±0.2°、28.7°±0.2°、30.8°±0.2°、33.4°±0.2°。

在另一优选例中，所述晶型A还具有选自下组的一个或者多个特征：

- 1)所述晶型 A 的 XRPD 图谱包括 6 个或 6 个以上选自下组的 2θ 值: $5.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $10.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $13.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $14.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $18.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $22.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $24.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $24.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $25.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $25.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $26.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $27.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $28.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $29.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $30.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、
5 $30.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $31.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $32.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $33.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $34.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $35.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $36.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $37.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $39.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $41.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $41.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $42.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $43.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $44.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $46.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $46.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $49.2^\circ \pm 0.2^\circ$;
- 2)所述晶型 A 的 XRPD 图谱基本如图 1 所表征;
- 3)所述晶型 A 的 TGA 图谱在 15°C - 200°C 失重 19%-30%;
- 10 4)所述晶型 A 的 TGA 图谱基本如图 2 所表征;
- 5)所述晶型 A 的 DSC 图谱在 50°C - 80°C 范围内具有吸热峰;
- 6)所述晶型 A 的 DSC 图谱基本如图 3 所表征;
- 7)所述晶型 A 为五水合物、六水合物、七水合物、八水合物、或九水合物。
- 在另一优选例中, 所述晶型 B 具有选自下组的一个或者多个特征:
- 15 1)所述晶型 B 的 XRPD 图谱包括 3 个或 3 个以上选自下组的 2θ 值: $12.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $14.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $17.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $21.5^\circ \pm 0.2^\circ$;
- 2)所述晶型 B 的 XRPD 图谱还包括 1 个或多个以上选自下组的 2θ 值:
 $21.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $23.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $25.5^\circ \pm 0.2^\circ$;
- 3)所述晶型 B 的 XRPD 图谱包括 6 个或 6 个以上选自下组的 2θ 值: $5.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、
20 $7.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $10.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $11.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $13.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $14.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $17.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $17.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $18.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $21.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $21.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $22.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $23.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $24.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $24.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $25.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $26.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $27.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $27.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $28.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $29.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $29.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $31.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $32.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $32.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $34.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $35.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $36.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $38.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $39.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、
25 $41.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $43.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $45.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $45.7^\circ \pm 0.2^\circ$;
- 4)所述晶型 B 的 XRPD 图谱基本如图 4 所表征;
- 5)所述晶型 B 的 TGA 图谱在 15°C - 200°C 失重 12%-23%;
- 6)所述晶型 B 的 TGA 图谱基本如图 5 所表征;
- 7)所述晶型 B 的 DSC 图谱在 50°C - 80°C 范围内具有吸热峰;
- 30 8)所述晶型 B 的 DSC 图谱基本如图 6 所表征;
- 9)所述晶型 B 为三水合物、四水合物、五水合物、或六水合物。
- 在另一优选例中, 所述晶型 C 具有选自下组的一个或者多个特征:
- 1)所述晶型 C 的 XRPD 图谱包括 3 个或 3 个以上选自下组的 2θ 值: $6.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $17.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $21.5^\circ \pm 0.2^\circ$;

2)所述晶型 C 的 XRPD 图谱还包括 1 个或多个以上选自下组的 2 θ 值: 6.3° $\pm$ 0.2°、10.0° $\pm$ 0.2°、12.1° $\pm$ 0.2°、12.3° $\pm$ 0.2°、12.8° $\pm$ 0.2°、15.3° $\pm$ 0.2°、16.6° $\pm$ 0.2°、17.7° $\pm$ 0.2°、19.9° $\pm$ 0.2°、20.2° $\pm$ 0.2°、21.5° $\pm$ 0.2°、23.3° $\pm$ 0.2°、24.9° $\pm$ 0.2°、25.6° $\pm$ 0.2°、33.7° $\pm$ 0.2°;

3)所述晶型 C 的 XRPD 图谱基本如图 7 所表征;

5 4)所述晶型 C 的 TGA 图谱在 15°C-200°C 失重 8%-16%;

5)所述晶型 C 的 TGA 图谱基本如图 8 所表征;

6)所述晶型 C 的 DSC 图谱在 50°C-80°C 范围内具有吸热峰;

7)所述晶型 C 的 DSC 图谱基本如图 9 所表征;

8)所述晶型 C 为二水合物、三水合物、或四水合物。

10

本发明的第二方面提供了一种制备还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体的方法, 所述方法包括如下步骤:

1)将还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐加入到第一溶剂中, 得到含还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的溶液;

15

2)在搅拌条件下, 滴加第二溶剂, 析晶得到还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体; 或在搅拌条件下, 用氮气吹扫, 析晶得到还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体; 或在搅拌条件下, 减压浓缩, 析晶得到还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体。

20

在另一优选例中, 所述第一溶剂和所述第二溶剂相同或不同, 分别独立地选自下组: 水、乙腈、四氢呋喃、甲基叔丁基醚、2-甲基四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二乙基甲酰胺、二甲基亚砜、乙酸乙酯、乙酸异丙酯、酮类溶剂、醇类溶剂, 或其组合。

在另一优选例中, 所述酮类溶剂选自下组: 丙酮、2-丁酮、甲基异丁基酮、甲基叔丁基酮、3-甲基-2-丁酮、或其组合。

25

在另一优选例中, 所述醇类溶剂选自下组: 甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、正戊醇。

在另一优选例中, 所述方法还包括: 步骤 3), 对所述晶体进行干燥。

在另一优选例中, 所述干燥包括: 对所得晶体用真空干燥 2-30 小时。

在另一优选例中, 所述的晶体为晶型 A。

30

在另一优选例中, 当在步骤 2)中所获得的晶体为晶型 B 和/或晶型 C 时, 则步骤 2)还包括子步骤 2a), 将晶型 B 和/或晶型 C 在含水分的气体中放置, 从而转化为晶型 A。

在另一优选例中, 在步骤 2a)中, 将晶型 B 和/或晶型 C 置于空气中, 从而转化为晶型 A。

35

本发明的第三方面提供了一种组合物，所述组合物包含：(a)第一方面所述的任一晶体，以及(b)药学上可接受的辅料或载体、或保健品上可接受的辅料或载体、或化妆品上可接受的辅料或载体、或食品上可接受的辅料或载体。

5 在另一优选例中，所述的组合物选自下组：药物组合物、保健品组合物、化妆品组合物、或食品组合物。

在另一优选例中，所述药物组合物包含：(a)第一方面所述的任一晶体，以及(b)药学上可接受的辅料或载体。

在另一优选例中，所述药物组合物的剂型选自下组：口服制剂、注射剂型、呼吸道给药剂型、皮肤给药剂型、粘膜给药剂型、腔道给药剂型等。

10 在另一优选例中，所述保健品组合物包含：(a)第一方面所述的任一晶体，以及(b)保健品上可接受的辅料或载体。

在另一优选例中，所述化妆品组合物包含：(a)第一方面所述的任一晶体，以及(b)化妆品上可接受的辅料或载体。

15 在另一优选例中，化妆品组合物包括选自下组用途的化妆品：肤用化妆品、发用化妆品、美容化妆品、特殊功能化妆品。

在另一优选例中，所述食品组合物包含：(a)第一方面所述的任一晶体，以及(b)食品上可接受的辅料或载体。

20 本发明的第四方面提供了一种晶体的用途，用于制备药物或保健品或化妆品或食品添加剂。

25 在另一优选例中，所述的药物用于保护视神经、改善视网膜损伤、预防/治疗脱发、预防/改善心脑血管疾病、抑制肾小管损伤和衰老、预防肝纤维化、改善脂肪性肝病、改善干眼症症状、修复肾脏损伤、预防糖尿病/肾病、改善老年人肌少症症状、治疗慢性炎症、减轻多囊卵巢综合征患者的病情、预防/延缓青光眼、减轻神经炎症、减轻蒽环类化疗药物的心脏毒性、助力脑梗康复、防治老年心衰等。

30 在另一优选例中，所述的保健品用于减缓细胞衰老、延缓女性的生殖衰老、提高受孕能力、改善更年期、增强男性性功能、改善睡眠、舒缓情绪、提升精力、改善心血管功能、提升心血管健康水平、提高免疫力、改善亚健康、预防肿瘤、预防老年痴呆等。

在另一优选例中，所述的化妆品用于改善受损细胞功能、改善肤质/发质、预防/治疗皮肤光老化、保持皮肤柔软和弹性、延缓皮肤衰老等。

在另一优选例中，所述的食物添加剂用于改善食欲、改善消化功能、促进新陈代谢、促进毛发/指甲生长等，提高营养价值。

35

应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

5 附图说明

- 图1显示了NMNH二钠盐晶型A的XRPD图谱。
图2显示了NMNH二钠盐晶型A的TGA图谱。
图3显示了NMNH二钠盐晶型A的DSC图谱。
图4显示了NMNH二钠盐晶型B的XRPD图谱。
10 图5显示了NMNH二钠盐晶型B的TGA图谱。
图6显示了NMNH二钠盐晶型B的DSC图谱。
图7显示了NMNH二钠盐晶型C的XRPD图谱。
图8显示了NMNH二钠盐晶型C的TGA图谱。
图9显示了NMNH二钠盐晶型C的DSC图谱。
15 图10显示了NMNH二钠盐无定型的XRPD图谱。
图11显示了NMNH二钠盐无定型的TGA图谱。
图12显示了NMNH二钠盐无定型的DSC图谱。
图13显示了NMNH二钠盐晶型A的¹H NMR图谱。
图14显示了在25 °C、65%RH敞口放置条件下晶型A与无定型固体的稳定
20 性。
图15显示了在4 °C、75%RH敞口放置条件下晶型A与无定型固体的稳定性。

具体实施方式

- 25 本发明人通过广泛而深入的研究,首次意外地开发了一种还原型NMNH的特定盐,所述盐为NMNH二钠盐。本发明研究表明,NMNH二钠盐的多晶型物(尤其是晶型A),具有优异的稳定性。与其无定型固体相比,无定形在放置时会从固体变为油状物或粘稠成团、降解快。此外,本发明的多晶型物具有纯度高、稳定性好、流动性好、吸湿性低等优点,适合用于药物组合物、保健品、化妆
30 品、食品添加剂等。在此基础上,发明人完成了本发明。

术语说明

除非另外定义,否则本文中所用的全部技术与科学术语均具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解의相同含义。

- 35 如本文所用,术语“nH₂O”中的n指包括2至10之间的所有可能的数值,包括

整数、非整数；“H₂O”为水的化学式，代表水分子或水。

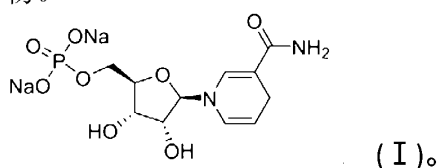
如本文所用，在提到具体列举的数值中使用时，术语“约”意指该值可以从列举的具体值变动不多于1%，例如，如本文所用，表述“约100”包括99和101和之间的全部值(例如，99.1、99.2、99.3、99.4等)。

5 如本文所用，术语“含有”或“包括(包含)”可以是开放式、半封闭式和封闭式的。换言之，所述术语也包括“基本上由...构成”或“由...构成”。

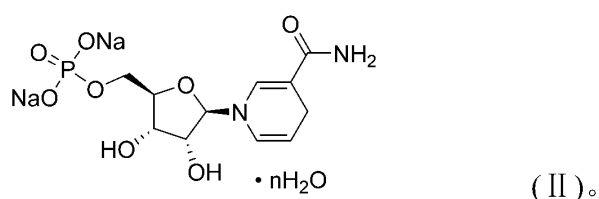
如本文所用，术语“n个或n个以上选自下组的20值”指包括n以及大于n的任意正整数(例如n、n+1、...)，其中上限N_{up}为该组中所有20峰值的个数。例如“3个或3个以上”不仅包括3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、
10 17、18、19、20、21、...上限N_{up}各个正整数，还包括“4个或4个以上”、“5个或5个以上”、“6个或6个以上”等范围。

NMNH二钠盐

如本文所用，术语“还原型β-烟酰胺单核苷酸二钠盐”、“β-二氢烟酰胺
15 单核苷酸二钠盐”、“二氢烟酰胺单核苷酸二钠盐”、“还原型烟酰胺单核苷酸二钠盐”、“还原型NMN二钠盐”、“NMNH-Na₂”可互换使用，均指还原型β-烟酰胺单核苷酸与两个钠离子形成的盐，其结构如式 I 所示。应理解，该术语包括水合物和无水合物。



20 在本发明中，优选的还原型NMN二钠盐为水合物，其结构如式(II)所示：



多晶型物

25 固体不是以无定型的形式就是以结晶的形式存在。在结晶形式的情况下，分子定位于三维晶格格位内。当化合物从溶液或浆液中结晶出来时，它可以不同的空间点阵排列结晶(这种性质被称作“多晶型现象”)，形成具有不同的结晶形式的晶体，这各种结晶形式被称作“多晶型物”。给定物质的不同多晶型物可在一个或多个物理属性方面(如溶解度和溶解速率、真比重、晶形、堆积方式、

流动性和/或固态稳定性)彼此不同。

化合物的多晶型形式可以表现出不同的熔点、吸湿性、稳定性、溶解度、生物利用度、生物活性和流动性等，而这些是影响成药性的重要因素。

如本文所用，“晶体”、“本发明晶体”或“多晶型物”可互换使用，指本发明
5 第一方面所述的晶体，其晶型选自下组：晶型A、晶型B、或晶型C。

结晶

可以通过操作溶液，使得目标化合物的溶解度极限被超过，从而完成生产
10 规模的结晶。这可以通过多种方法来完成，例如，，在相对高的温度下溶解化
合物，然后冷却溶液至饱和极限以下。或者通过沸腾、常压蒸发、真空干燥或
通过其他的一些方法来减少液体体积。可通过加入抗溶剂或化合物在其中具有
低的溶解度的溶剂或这样的溶剂的混合物，来降低目标化合物的溶解度。另一
种可选方法是调节pH值以降低溶解度。有关结晶方面的详细描述可参见
15 Crystallization, 第三版, J. W. Mullens, Butterworth-Heinemann Ltd., 1993,
ISBN0750611294。

假如期望盐的形成与结晶同时发生，如果盐在反应介质中比原料溶解度
小，那么加入适当的酸或碱可导致所需盐的直接结晶。同样，在最终想要的形
式比反应物溶解度小的介质中，合成反应的完成可使最终产物直接结晶。

结晶的优化可包括用所需形式的晶体作为晶种接种于结晶介质中。另外，
20 许多结晶方法使用上述策略的组合。一个实施是在高温下将目标化合物溶解在
溶剂中，随后通过受控方式加入适当体积的抗溶剂中，以使体系正好在饱和水
平之下。此时，可加入所需形式的晶种(并保持晶种的完整性)，将体系冷却以
完成结晶。

25 溶剂合物

化合物或药物分子与溶剂分子接触过程中，外部条件与内部条件因素造成
溶剂分子与化合物分子形成共晶而残留在固体物质中的情况难以避免。化合物
与溶剂结晶后形成的物质称作溶剂合物(solvate)。容易与有机化合物形成溶剂
合物的溶剂种类为水、甲醇、乙醇、苯、醚、杂环芳烃等。

30

水合物

水合物是一种特殊的溶剂合物。在制药工业中，无论在原料药的合成、药
物制剂、药物贮存和药物活性评价中，水合物都因为其特殊性而具有单独讨论
的价值。

35 本发明中，式(I)所示化合物的晶体，可以为非溶剂合物，也可以为溶剂合

物；式(I)所示化合物晶体的晶型A、晶型B、晶型C均为水合物。

制备方法

5 本发明制备NMNH二钠盐晶体时，使用了控温结晶、减压浓缩结晶、氮气吹扫结晶、挥发结晶、溶析结晶、控温控湿转晶、真空干燥转晶等，所述方法简便易行，易于工业化生产。

用途

10 本发明提供了NMNH二钠盐晶体(包括晶型A、晶型B、晶型C)的用途：所述晶体高效广谱，可用于药物组合物、保健品、化妆品、食品添加剂等。

本发明的主要优点在于：

(1)本发明的式(I)化合物晶体(包括晶型A、晶型B、晶型C)，与其无定型固体相比，纯度高、稳定性好、流动性好、吸湿性低。

15 (2)本发明的式(I)化合物晶体(包括晶型A、晶型B、晶型C)制备方法简单，与冻干工艺(耗能大、产能受限)相比，更适合工业化生产。

(3)本发明的式(I)化合物晶体(包括晶型A、晶型B、晶型C)可用于药物组合物、保健品、化妆品、食品添加剂等。

(4)本发明的多晶型物制备方法简单，适合工业化生产。

20

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂家所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。

25 除非另行定义，文中所使用的所有专业与科学用语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外，任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法中。

以下实施例中所用的实验材料和试剂如无特别说明均可从市售渠道获得。

30 测试方法：

XRPD(X-射线粉末衍射)图谱测定方法：Bruker D2 Phaser X-射线粉末衍射仪；辐射源Cu($1.54060 \text{ \AA}$)；发生器(Generator) kv: 30kv；发生器(Generator) mA: 10mA；起始的 2θ : 2.000° ；扫描范围： $2.0000 \sim 50.000^\circ$ ，扫描步长 0.02° ，扫描速度 0.1s/step 。

35 由包括以下的多种因素产生与这类X射线粉末衍射分析结果相关的测量差

异：(a)样品制备物(例如样品高度)中的误差，(b)仪器误差，(c)校准差异，(d)操作人员误差(包括在测定峰位置时出现的误差)，和(e)物质的性质(例如优选的定向误差)。校准误差和样品高度误差经常导致所有峰在相同方向中的位移。当使用平的支架时，样品高度的小差异将导致XRPD峰位置的大位移。系统研究显示1mm的样品高度差异可以导致高至1°的2 θ的峰位移。可以从XRPD图谱鉴定这些位移，并且可以通过针对所述位移进行补偿(将系统校准因子用于所有峰位置值)或再校准仪器消除所述位移。如上所述，通过应用系统校准因子使峰位置一致，可校正来自不同仪器的测量误差。

TGA(热重分析法)图谱测定方法：美国TA公司的TGA55型仪器；温度范围：14.8~300℃；加热速率：10℃/min；氮气流速：40mL/min。

DSC(差示扫描量热法)图谱测定方法：：美国TA公司的TA Q55型仪器；温度范围：20~230℃，加热速率：10℃/min，氮气流速：50mL/min。

水分(KF)测定方法：闽测仪器设备(厦门)有限公司的MC-2000型自动微量水分测定仪，南京化学试剂股份有限公司的卡尔-费休试剂(Karl fischer reagent)。

实施例1. 晶型A的制备

NMNH二钠盐的制备：往2.85升Tris-HCl(50 mM)溶液中加入179 mg MnCl₂，调溶液pH为8.0，控温在37℃。向溶液中加入143 mg大肠杆菌 (EcNADD) 的NAD⁺ 焦磷酸酶，加入10 g NADH，搅拌2小时。用制备色谱分离得到NMNH溶液，用NaOH调溶液pH至10，减压浓缩得到3.8 g NMNH二钠盐固体。

称取500 mg NMNH二钠盐，溶于1 ml水中，在20-40℃用氮气吹扫，析出晶体后过滤，得固体于鼓风烘箱干燥。所得固体晶型为式(I)化合物的晶型A，水分(KF)为27%。

对所得固体进行X-射线粉末衍射测试，所得晶型A的XRPD图谱基本如图1所示，¹H NMR图谱如图13所示，衍射角数据基本如下表1所示，其中2θ值误差范围为±0.2°。

表1 晶型A的XRPD数据

2θ (°)	d(Å)	相对强度
4.97	17.75346	3.5 %
10.49	8.42968	19.6 %
12.69	6.96993	100.0 %
13.72	6.45031	4.6 %
14.86	5.95545	2.0 %
15.94	5.55607	27.2 %

16.14	5.48783	11.9 %
16.55	5.35113	11.1 %
18.02	4.91986	79.2 %
19.79	4.48215	10.7 %
20.41	4.34730	69.0 %
20.92	4.24317	47.0 %
22.60	3.93079	12.9 %
24.00	3.70484	15.4 %
24.66	3.60803	6.3 %
25.16	3.53612	8.5 %
25.69	3.46436	8.7 %
26.13	3.40740	12.9 %
27.78	3.20916	22.2 %
28.66	3.11191	16.8 %
29.31	3.04460	2.1 %
30.30	2.94746	4.6 %
30.83	2.89811	17.0 %
31.77	2.81429	26.5 %
32.70	2.73667	10.3 %
33.40	2.68027	14.3 %
34.18	2.62097	7.1 %
35.82	2.50471	6.2 %
36.40	2.46626	4.2 %
37.41	2.40230	2.5 %
39.69	2.26888	1.9 %
41.22	2.18824	2.9 %
41.72	2.16322	4.5 %
42.63	2.11907	2.9 %
43.87	2.06223	3.2 %
44.32	2.04205	2.2 %
45.98	1.97234	2.0 %
46.42	1.95466	1.7 %
49.20	1.85061	2.1 %

晶型A的TGA图谱基本如图2所示，在15℃-200℃失重19%-30%。

晶型A的DSC图谱基本如图3所示，在50℃-80℃范围内具有吸热峰。

实施例2. 晶型A的公斤级放大及提纯效果

NMNH二钠盐水溶液的制备：10升饱和碳酸氢钠水溶液中加入1.7 Kg β-NMN，0.94 Kg Na₂S₂O₄，室温搅拌过夜，过滤得清液，用NaOH调清液pH至10，得到NMNH二钠盐水溶液(HPLC纯度为95.2%)。

控制温度在20-40 ℃，机械搅拌，减压浓缩；浓缩去部分水后，加入10 g 实施例1所制得的晶体(晶型A)，继续减压浓缩至剩余1.5-2升，停止浓缩，降温至0-10 ℃，过滤，鼓风干燥。得到NMNH二钠盐晶体2.07 Kg，水分(KF)为26%，HPLC纯度为99.4%；所得晶体为式(I)化合物的晶型A。

表2 晶型A提纯效果

晶型A提纯效果			
初始水溶液纯度 (HPLC, 面积%)	化合物	产品纯度 (HPLC, 面积%)	纯度提高的百分点
95.2	晶型A	99.4	4.2
	无定型(冻干)	95.2	0

由表2可以看出，晶型A具有一定的提纯效果，而冻干所得无定型固体无提纯作用。

实施例3. 晶型B的制备

称取50 g 实施例2制得的NMNH二钠盐晶体(晶型A)，真空干燥2-4小时。所得固体晶型为式(I)化合物的晶型B，水分(KF)为16%。

对所得固体进行X-射线粉末衍射测试，所得晶型B的XRPD图谱基本如图4所示，衍射角数据基本如下表3所示，其中2θ值误差范围为±0.2°。

表3 晶型B的XRPD数据

2θ (°)	d(Å)	相对强度
5.24	16.85167	6.3 %
7.67	11.52255	1.5 %
10.54	8.38280	3.5 %
11.51	7.67935	5.0 %
12.00	7.36830	46.3 %
12.57	7.03682	3.3 %
13.73	6.44280	2.4 %
14.47	6.11497	27.7 %
15.27	5.79614	28.5 %

16.50	5.36993	13.4 %
17.13	5.17063	3.3 %
17.49	5.06592	45.8 %
18.52	4.78703	1.7 %
19.44	4.56198	10.8 %
19.89	4.46104	35.0 %
21.09	4.20861	24.2 %
21.49	4.13220	100.0 %
22.47	3.95325	4.8 %
23.12	3.84370	20.1 %
24.10	3.68915	3.7 %
24.69	3.60264	11.7 %
25.50	3.49004	23.7 %
26.42	3.37086	4.1 %
27.15	3.28127	9.2 %
27.65	3.22330	7.5 %
28.26	3.15589	7.0 %
29.16	3.06029	6.4 %
29.45	3.03050	5.9 %
31.19	2.86497	3.7 %
32.12	2.78456	3.8 %
32.62	2.74265	4.0 %
34.19	2.62061	5.3 %
35.15	2.55124	1.4 %
36.64	2.45060	4.2 %
38.25	2.35109	1.2 %
39.73	2.26698	3.8 %
41.39	2.17972	2.9 %
43.04	2.09971	2.9 %
45.09	2.00917	3.2 %
45.66	1.98535	1.3 %

晶型B的TGA图谱基本如图5所示，在15℃-200℃失重12%-23%。

晶型B的DSC图谱基本如图6所示，在50℃-80℃范围内具有吸热峰。

实施例4. 晶型C的制备

称取20 g 实施例3制得的NMNH二钠盐晶体(晶型B)，真空干燥10-20小时。所得固体晶型为式(I)化合物的晶型C，水分(KF)为11%。

对所得固体进行X-射线粉末衍射测试，所得晶型C的XRPD图谱基本如图7 5 所示，衍射角数据基本如下表4所示，其中2θ值误差范围为±0.2°。

表4 晶型C的XRPD数据

2θ (°)	d(Å)	相对强度
6.26	14.10620	59.0 %
9.98	8.85337	18.9 %
12.13	7.29278	39.8 %
12.28	7.20286	39.8 %
12.77	6.92824	40.2 %
15.29	5.79145	53.2 %
16.57	5.34585	21.0 %
17.68	5.01188	100.0 %
19.90	4.45836	51.9 %
20.19	4.39421	60.2 %
21.49	4.13223	86.1 %
23.28	3.81768	20.2 %
24.91	3.57143	32.4 %
25.57	3.48047	31.6 %
33.69	2.65794	11.9 %

晶型C的TGA图谱基本如图8所示，在15℃-200℃失重8%-16%。

晶型C的DSC图谱基本如图9所示，在50℃-80℃范围内具有吸热峰。

10 **实施例5. 晶型B吸收空气中的水后转变为晶型A**

称取1 g 实施例3制得的NMNH二钠盐晶体(晶型B)，2-8 ℃敞口于空气中，空气相对湿度为70-80%，30天后所得固体晶型为式(I)化合物的晶型A，水分(KF)为29%。

15 **实施例6. 晶型C吸收空气中的水后转变为晶型A**

称取1 g 实施例4制得的NMNH二钠盐晶体(晶型C)，2-8 ℃敞口于空气中，空气相对湿度为70-80%，24小时后所得固体晶型为式(I)化合物的晶型A，水分(KF)为24%。

实施例7. 式(I)化合物的无定型固体的制备

称取30 g 实施例2制得的NMNH二钠盐晶体，溶于90 ml水中得澄清溶液，将此溶液冷冻成固体后进行冻干。冻干24小时后所得产品为无定型固体，泡沫状，流动性差，水分(KF)为9%。

5 对所得无定型固体进行X-射线粉末衍射测试，其XRPD图谱基本如图10所示。

无定型固体的TGA图谱基本如图11所示，在15℃-200℃失重1%-15%。
无定型固体的DSC图谱基本如图12所示，在50℃-80℃范围内具有吸热峰。

10 实施例8. 晶型A与无定型固体的稳定性对比

(1)将实施例2中的产品晶体(晶型A)和实施例7中的产品无定型固体都敞口放置于25 ℃、65%RH的稳定性试验箱中考察稳定性，得到如表5和图14数据。

表5 晶型A与无定型固体的稳定性(25 ℃、65%RH)

时间	NMNH二钠盐纯度(HPLC, 面积%)	
	晶型A	无定型
0天	99.33	99.30(粉末)
1天	99.27	99.02(油)
5天	99.01	/

从表5和图14中可看出，晶型A放置5天后纯度由99.33%降为99.01%(仍为晶体粉末)；而无定型固体放置1天后纯度由99.30%降为99.02%(粉末吸水变成油状物)。可见，NMNH二钠盐的晶型A固体比无定型固体更稳定。

(2)将实施例2中的产品晶体(晶型A)和实施例7中的产品无定型固体都敞口放置于4 ℃、75%RH的稳定性试验箱中考察稳定性，得到如表6和图15中数据。

20 表6 晶型A与无定型固体的稳定性(4 ℃、75%RH)

时间	NMNH二钠盐纯度(HPLC, 面积%)	
	晶型A	无定型
0天	99.33	99.30
5天	99.35	99.26
18天	99.33	99.17

从表6和图15可看出，晶型A放置18天后纯度99.33%，几乎没变化(仍为晶体粉末)；而无定型固体放置5天后纯度由99.30%降为99.26%(粉末固体吸水变粘稠成团)，第18天纯度降为99.17%(颜色变深)。由此可见，NMNH二钠盐的晶型A固体比无定型固体更稳定。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权 利 要 求

1.一种还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体,其特征在于,所述晶体的晶型选自下组:晶型 A、晶型 B、或晶型 C。

2.如权利要求 1 所述的还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体,其特征在于,
5 所述晶型 A 的 XRPD 图谱包括 3 个或 3 个以上(如 4、5、或 6 个)选自下组的 2 θ 值: 12.7° $\pm$ 0.2°、15.9° $\pm$ 0.2°、18.0° $\pm$ 0.2°、20.4° $\pm$ 0.2°、20.9° $\pm$ 0.2°、31.8° $\pm$ 0.2°。

3.如权利要求 1 所述的还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体,其特征在于,所述晶型 A 还具有选自下组的一个或者多个特征:

1)所述晶型 A 的 XRPD 图谱包括 6 个或 6 个以上选自下组的 2 θ 值:5.0° $\pm$ 0.2°、
10 10.5° $\pm$ 0.2°、12.7° $\pm$ 0.2°、13.7° $\pm$ 0.2°、14.9° $\pm$ 0.2°、15.9° $\pm$ 0.2°、16.1° $\pm$ 0.2°、16.6° $\pm$ 0.2°、
18.0° $\pm$ 0.2°、19.8° $\pm$ 0.2°、20.4° $\pm$ 0.2°、20.9° $\pm$ 0.2°、22.6° $\pm$ 0.2°、24.0° $\pm$ 0.2°、24.7° $\pm$ 0.2°、
25.2° $\pm$ 0.2°、25.7° $\pm$ 0.2°、26.1° $\pm$ 0.2°、27.8° $\pm$ 0.2°、28.7° $\pm$ 0.2°、29.3° $\pm$ 0.2°、30.3° $\pm$ 0.2°、
30.8° $\pm$ 0.2°、31.8° $\pm$ 0.2°、32.7° $\pm$ 0.2°、33.4° $\pm$ 0.2°、34.2° $\pm$ 0.2°、35.8° $\pm$ 0.2°、36.4° $\pm$ 0.2°、
37.4° $\pm$ 0.2°、39.7° $\pm$ 0.2°、41.2° $\pm$ 0.2°、41.7° $\pm$ 0.2°、42.6° $\pm$ 0.2°、43.9° $\pm$ 0.2°、44.3° $\pm$ 0.2°、
15 46.0° $\pm$ 0.2°、46.4° $\pm$ 0.2°、49.2° $\pm$ 0.2°;

2)所述晶型 A 的 XRPD 图谱基本如图 1 所表征;

3)所述晶型 A 的 TGA 图谱在 15°C-200°C 失重 19%-30%;

4)所述晶型 A 的 TGA 图谱基本如图 2 所表征;

5)所述晶型 A 的 DSC 图谱在 50°C-80°C 范围内具有吸热峰;

6)所述晶型 A 的 DSC 图谱基本如图 3 所表征;

7)所述晶型 A 为五水合物、六水合物、七水合物、八水合物、或九水合物。

4.如权利要求 1 所述的还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体,其特征在于,所述晶型 B 具有选自下组的一个或者多个特征:

1)所述晶型 B 的 XRPD 图谱包括 3 个或 3 个以上选自下组的 2 θ 值:12.0° $\pm$ 0.2°、
25 14.5° $\pm$ 0.2°、15.3° $\pm$ 0.2°、17.5° $\pm$ 0.2°、19.9° $\pm$ 0.2°、21.5° $\pm$ 0.2°;

2)所述晶型 B 的 XRPD 图谱还包括 1 个或多个以上选自下组的 2 θ 值:
21.1° $\pm$ 0.2°、23.1° $\pm$ 0.2°、25.5° $\pm$ 0.2°;

3)所述晶型 B 的 XRPD 图谱包括 6 个或 6 个以上选自下组的 2 θ 值:5.2° $\pm$ 0.2°、
7.7° $\pm$ 0.2°、10.5° $\pm$ 0.2°、11.5° $\pm$ 0.2°、12.0° $\pm$ 0.2°、12.6° $\pm$ 0.2°、13.7° $\pm$ 0.2°、14.5° $\pm$ 0.2°、
30 15.3° $\pm$ 0.2°、16.5° $\pm$ 0.2°、17.1° $\pm$ 0.2°、17.5° $\pm$ 0.2°、18.5° $\pm$ 0.2°、19.4° $\pm$ 0.2°、19.9° $\pm$ 0.2°、
21.1° $\pm$ 0.2°、21.5° $\pm$ 0.2°、22.5° $\pm$ 0.2°、23.1° $\pm$ 0.2°、24.1° $\pm$ 0.2°、24.7° $\pm$ 0.2°、25.5° $\pm$ 0.2°、
26.4° $\pm$ 0.2°、27.2° $\pm$ 0.2°、27.7° $\pm$ 0.2°、28.3° $\pm$ 0.2°、29.2° $\pm$ 0.2°、29.5° $\pm$ 0.2°、31.2° $\pm$ 0.2°、
32.1° $\pm$ 0.2°、32.6° $\pm$ 0.2°、34.2° $\pm$ 0.2°、35.1° $\pm$ 0.2°、36.6° $\pm$ 0.2°、38.3° $\pm$ 0.2°、39.7° $\pm$ 0.2°、
41.4° $\pm$ 0.2°、43.0° $\pm$ 0.2°、45.1° $\pm$ 0.2°、45.7° $\pm$ 0.2°;

4)所述晶型 B 的 XRPD 图谱基本如图 4 所表征;

- 5)所述晶型 B 的 TGA 图谱在 15℃-200℃失重 12%-23%;
- 6)所述晶型 B 的 TGA 图谱基本如图 5 所表征;
- 7)所述晶型 B 的 DSC 图谱在 50℃-80℃范围内具有吸热峰;
- 8)所述晶型 B 的 DSC 图谱基本如图 6 所表征;
- 5 9)所述晶型 B 为三水合物、四水合物、五水合物、或六水合物。
- 5.如权利要求 1 所述的还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体, 其特征在于, 所述晶型 C 具有选自下组的一个或者多个特征:
- 1)所述晶型 C 的 XRPD 图谱包括 3 个或 3 个以上选自下组的 2 θ 值: 6.3° $\pm$ 0.2°、15.3° $\pm$ 0.2°、17.7° $\pm$ 0.2°、19.9° $\pm$ 0.2°、20.2° $\pm$ 0.2°、21.5° $\pm$ 0.2°;
- 10 2)所述晶型 C 的 XRPD 图谱还包括 1 个或多个以上选自下组的 2 θ 值: 6.3° $\pm$ 0.2°、10.0° $\pm$ 0.2°、12.1° $\pm$ 0.2°、12.3° $\pm$ 0.2°、12.8° $\pm$ 0.2°、15.3° $\pm$ 0.2°、16.6° $\pm$ 0.2°、17.7° $\pm$ 0.2°、19.9° $\pm$ 0.2°、20.2° $\pm$ 0.2°、21.5° $\pm$ 0.2°、23.3° $\pm$ 0.2°、24.9° $\pm$ 0.2°、25.6° $\pm$ 0.2°、33.7° $\pm$ 0.2°;
- 3)所述晶型 C 的 XRPD 图谱基本如图 7 所表征;
- 4)所述晶型 C 的 TGA 图谱在 15℃-200℃失重 8%-16%;
- 15 5)所述晶型 C 的 TGA 图谱基本如图 8 所表征;
- 6)所述晶型 C 的 DSC 图谱在 50℃-80℃范围内具有吸热峰;
- 7)所述晶型 C 的 DSC 图谱基本如图 9 所表征;
- 8)所述晶型 C 为二水合物、三水合物、或四水合物。
- 6.一种制备如权利要求 1 所述的还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的晶体的方
- 20 法, 其特征在于, 所述方法包括如下步骤:
- 1)将还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐加入到第一溶剂中, 得到含还原型 β -烟酰胺单核苷酸二钠盐的溶液;
- 2)在搅拌条件下, 滴加第二溶剂, 析晶得到权利要求 1 所述的晶体; 或在搅拌条件下, 用氮气吹扫, 析晶得到权利要求 1 所述的晶体; 或在搅拌条件下, 减压浓缩, 析晶得到权利要求 1 所述的晶体。
- 25 7.一种组合物, 其特征在于, 所述组合物包含: (a)如权利要求 1-5 中任一所述的晶体, 以及(b)药学上可接受的辅料或载体、或保健品上可接受的辅料或载体、或化妆品上可接受的辅料或载体、或食品上可接受的辅料或载体。
- 8.一种权利要求 1 所述的晶体的用途, 其特征在于, 用于制备药物或保健品或
- 30 化妆品或食品添加剂。