

X 射线衍射的绿原酸晶体结构解析

吴玲玲, 韩墨, 葛尔宁, 黄真, 钟晓明*
(浙江中医药大学, 杭州 310053)

[摘要] 目的: 以绿原酸粉末为研究对象, 利用粉末 X 射线衍射解析其晶体结构。方法: 利用 X 射线粉末衍射仪在步长 0.01° 条件下进行扫描, 获得了较高分辨率的衍射图谱。结果: 通过指标化确定其所属晶系及其空间群, 之后再通过 Monte Carlo 模拟退火和 Rietveld 精修确定其三维晶体结构模型和晶胞中各原子的分数坐标。结论: 绿原酸属于斜方晶系, Pna21 空间群, 其晶胞参数为 $a = 36.132 \text{ \AA}$, $b = 11.709 \text{ \AA}$, $c = 8.152 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$; 晶胞体积为 3448.86 \AA^3 , 其中每个晶胞中含有 4 个分子 ($Z = 4$)。

[关键词] 绿原酸; X 射线粉末衍射 (XPRD); 晶体结构

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0096-03

Crystal Structure Determination of Chlorogenic Acid by X-ray Powder Diffraction

WU Ling-ling, HAN Mo, GE Er-ning, HUANG Zhen, ZHONG Xiao-ming*
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] **Objective:** As the research object of chlorogenic acid, using X-ray powder diffraction analysis of its crystal structure. **Method:** In use of XPRD at step of 0.01° scan and get a high-resolution diffraction pattern. **Result:** Through indexing to identify the crystal system and the space group, then used monte carlo simulated annealing method and rietveld refinement to determine the three-dimensional crystal structure and fractional coordinates of each atom in crystal cell. **Conclusion:** Powder crystal structure of chlorogenic acid is orthorhombic, space group Pna21 with unit cell dimensions $a = 36.132 \text{ \AA}$, $b = 11.709 \text{ \AA}$, $c = 8.152 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$; $V = 3448.86 \text{ \AA}^3$, $Z = 4$.

[Key words] chlorogenic acid; X-ray powder diffraction; crystal structure

晶体结构通常采用 X 射线单晶衍射方法进行测定, 此方法可提供准确的分子构型, 获得准确、可靠的结构参数, 得到质量高的衍射图谱, 结构解析精度也高。随着计算技术的进步, 用粉末衍射数据解析晶体结构已经成为国内外晶体学界研究的热点^[1-5]。近年来, 利用粉末 X 射线衍射测定晶体结构的方法

已经取得了很大进展^[6-8]。

绿原酸作为一种重要的生物活性物质, 已经引起国内外学者的广泛关注。因此, 确定绿原酸的晶体结构, 明确其物理化学性质至关重要。同一分子结构的不同晶型的溶解度也有差异的, 会影响药物的生物利用度和治疗效果。本研究以中药有效成分绿原酸粉末为研究对象, 对其晶体结构进行解析。

1 材料与方 法

绿原酸对照品购于中国药品生物制品检定所 (批号 110753), 为淡黄色针状晶体粉末, 其分子结构式见图 1。

X 射线粉末衍射采用日本岛津公司 XRD-7000 型衍射仪, 在管压 40 kV, 管流 60 MA, Cu 靶, 狭缝宽

[收稿日期] 20100830(004)

[基金项目] 浙江省科技厅重点项目 (2003E30063)

[作者简介] 吴玲玲, 硕士, 研究方向: 中药新产品开发, Tel: 0571-86613576, E-mail: llcatherine@126.com

[通讯作者] * 钟晓明, 教授, 博导, 从事中药品质评价和资源开发利用, Tel: 0571-86613576, E-mail: zxm_k6@yahoo.com.cn

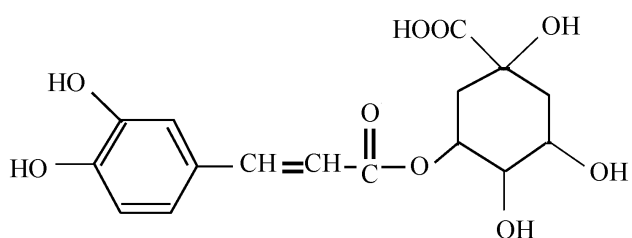


图 1 绿原酸的分子结构式

度: $DS = SS = 1^\circ$; $RS = 0.3 \text{ mm}$, 扫描速度 $2.000^\circ \cdot \text{min}^{-1}$, 步长 0.01° 。利用 cerius 软件计算晶体结构。

2 结果与讨论

2.1 高分辨率图谱获取 以 $2.000^\circ \cdot \text{min}^{-1}$, 步长 0.01° 扫描, 经过背景扣除, 平滑等处理后衍射图谱, 主峰位强度很大, 且峰位明显, 适用于指标化。

2.2 指标化和空间群确定 谱峰选择对指标化的影响很大, 采用 X-Cell 模块自动寻峰^[10], 忽略强度低于主峰强度 10% 的峰, 如表 1 所示绿原酸具有 2 种可能的晶系和空间群, 对表中 2 种可能的晶体结构利用 powder solve 模块进行空间结构搜索。

表 1 X-Cell 自动寻峰法指标化得到的绿原酸的晶胞参数

Rel Fm	晶系	a/A	b/A	c/A	α°	β°	γ°	V	space group
1.692	orthorhombic	36.80411	11.0907	7.809	90	90	90	3.187180e+003	Pna21
0.61	monoclinic	5.58736	3.5476	4.443	90	98	90	1.302170e+003	P21/c

2.3 Rietveld 结构精修 Powder Solve 模块计算得到的是可能的初始晶体空间结构, 需要根据实测 XRD 谱图, 应用 Rietveld 方法精修多个晶体结构参数, 例如晶胞参数、原子坐标及键长和键角等才能得到最理想的晶体结构。对斜方晶系 Pna21 晶体结构精修后 XRD 谱图试验谱与模拟谱比较见图 2, 其 $R_{wp} = 6.11\%$, $R_p = 4.31\%$, 结果表明试验谱与模拟谱拟和很好。对 P21/c 空间群进行 Rietveld 精修。其精修结果 $R_{wp} = 27.32\%$, $R_p = 20.33\%$ 。结果明显大于 Pna21 空间群, 而且其试验谱和模拟谱拟合非常不理想见图 3, 表明由 Powder Solve 模块进行坐标空间搜索, 确定该类空间群晶胞单元中分子基团可能的排序和构型与实际间存在明显的区别。因此, 结构解析结果表明绿原酸的晶体结构属于 Pna21 空间群, 以此建立晶胞模型, 进行 Pawley 优化, 并将其作为建立晶体结构和 Rietveld 精修的空间群。

2.4 绿原酸晶体结构 Powder solve 空间结构搜索和 Rietveld 结构精修结果表明绿原酸晶体结构属于 Pna21 空间群, 晶胞参数为 $a = 36.132\text{A}$, $b = 11.709\text{A}$, $c = 8.152\text{A}$, $\alpha = 90^\circ$; $\beta = 90^\circ$; $\gamma = 90^\circ$; $Z = 4$,

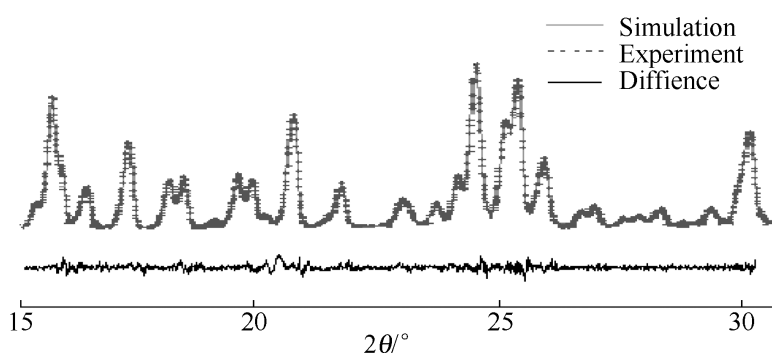


图 2 Pna21 空间群 Rietveld 精修后 XRD 的模拟谱和试验谱

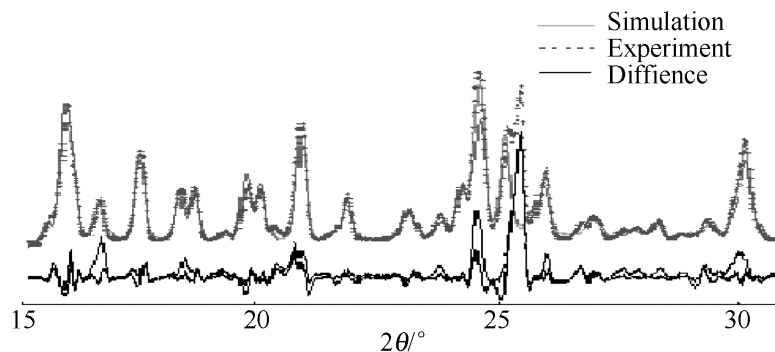


图 3 P21/c 空间群 Rietveld 精修后 XRD 的模拟谱和试验谱
单胞体积 = 3448.86A^3 ; 其三维晶体结构、各原子编号和晶胞内原子坐标如分别见图 4, 5 和表 2。

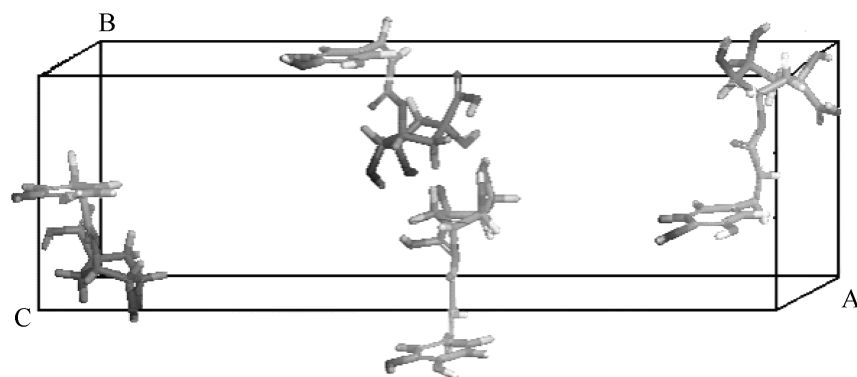


图 4 绿原酸的晶体结构

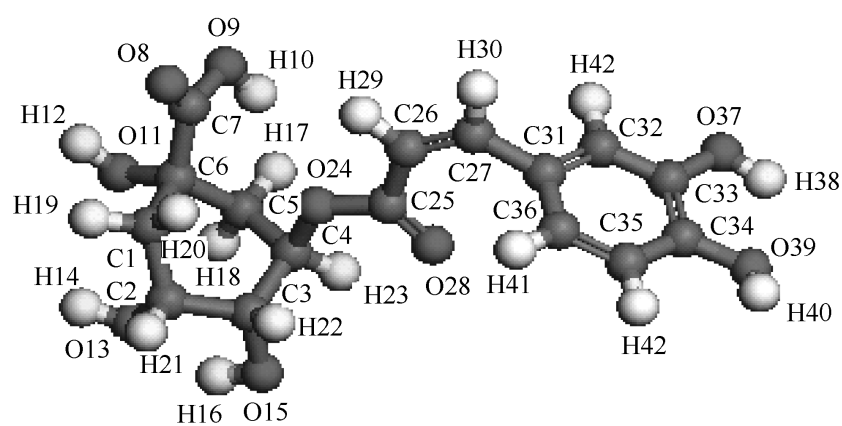


图 5 晶体结构中各原子编号

2.5 讨论 采用 X-cell 寻峰法, 其可能晶系结果有斜方晶系和单斜晶系 2 种, 而笔者通过 Rietveld 精修方法, 根据 R_{wp} 数值选择最优结果。对于有多种可能晶系通常采用密度差异来排除, 为了使结果准确可靠, 现通过密度差异来验证上述方法的准确性, 试验测得绿原酸对照品的密度大约在 $0.49 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, 而空间群 Pna21 的晶体密度根据公式: 晶体密度 = 绿原酸分子量 / (NA / 晶胞中的分子个数) \times 晶胞体积,

结果大约为 $0.6 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, 而空间群 P21/c 的晶体密度测得大约为 $1.73 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, 远偏离于测量密度, 证明选取 Pna21 空间群正确。

表 2 晶胞中原子分数坐标

No	Name	U	V	W
1	C	0.561 35 ±0.000 20	0.344 50 ±0.000 25	0.537 25 ±0.000 00
2	C	0.587 17 ±0.000 23	0.428 76 ±0.000 20	0.634 83 ±0.000 01
3	C	0.588 77 ±0.000 24	0.396 89 ±0.000 19	0.824 65 ±0.000 02
4	C	0.553 22 ±0.000 23	0.345 21 ±0.000 25	0.893 80 ±0.000 00
5	C	0.520 51 ±0.000 23	0.392 68 ±0.000 30	0.793 69 ±0.000 02
6	C	0.521 85 ±0.000 21	0.353 16 ±0.000 30	0.602 97 ±0.000 02
7	C	0.501 57 ±0.000 16	0.233 77 ±0.000 33	0.560 17 ±0.000 03
8	O	0.510 91 ±0.000 12	0.157 45 ±0.000 32	0.460 30 ±0.000 02
9	O	0.468 90 ±0.000 17	0.228 89 ±0.000 38	0.644 84 ±0.000 05
10	H	0.470 01 ±0.000 19	0.273 15 ±0.000 37	0.750 98 ±0.000 05
11	O	0.502 95 ±0.000 23	0.447 85 ±0.000 33	0.514 86 ±0.000 03
12	H	0.497 54 ±0.000 21	0.420 06 ±0.000 34	0.402 13 ±0.000 03
13	O	0.575 95 ±0.000 26	0.552 53 ±0.000 22	0.619 21 ±0.000 01
14	H	0.570 65 ±0.000 26	0.567 03 ±0.000 23	0.501 28 ±0.000 00
15	O	0.600 41 ±0.000 27	0.500 41 ±0.000 17	0.919 80 ±0.000 02
16	H	0.593 26 ±0.000 28	0.565 70 ±0.000 18	0.846 25 ±0.000 02
17	H	0.572 02 ±0.000 17	0.251 94 ±0.000 23	0.551 37 ±0.000 01
18	H	0.561 92 ±0.000 19	0.364 71 ±0.000 25	0.399 24 ±0.000 00
19	H	0.495 04 ±0.000 23	0.368 00 ±0.000 34	0.858 82 ±0.000 03
20	H	0.520 93 ±0.000 26	0.492 26 ±0.000 30	0.794 97 ±0.000 02
21	H	0.614 82 ±0.000 23	0.420 78 ±0.000 14	0.580 06 ±0.000 03
22	H	0.609 58 ±0.000 22	0.327 47 ±0.000 15	0.846 92 ±0.000 03
23	H	0.551 12 ±0.000 25	0.370 98 ±0.000 26	1.029 56 ±0.000 00
24	O	0.551 81 ±0.000 19	0.215 50 ±0.000 26	0.876 59 ±0.000 00
25	C	0.557 50 ±0.000 17	0.138 95 ±0.000 25	1.011 69 ±0.000 00
26	C	0.550 18 ±0.000 11	0.010 31 ±0.000 26	0.978 96 ±0.000 00
27	C	0.552 82 ±0.000 06	-0.082 85 ±0.000 25	1.092 25 ±0.000 00
28	O	0.567 17 ±0.000 20	0.178 29 ±0.000 23	1.149 05 ±0.000 01
29	H	0.541 24 ±0.000 07	-0.011 00 ±0.000 27	0.849 51 ±0.000 00
30	H	0.545 33 ±0.000 00	-0.172 10 ±0.000 27	1.045 72 ±0.000 00
31	C	0.565 00 ±0.000 10	-0.076 43 ±0.000 23	1.275 44 ±0.000 01
32	C	0.539 67 ±0.000 12	-0.083 96 ±0.000 27	1.407 51 ±0.000 00
33	C	0.550 74 ±0.000 14	-0.091 02 ±0.000 25	1.577 61 ±0.000 00
34	C	0.588 28 ±0.000 14	-0.091 71 ±0.000 18	1.616 70 ±0.000 02
35	C	0.613 41 ±0.000 13	-0.084 22 ±0.000 13	1.483 96 ±0.000 04
36	C	0.602 04 ±0.000 11	-0.078 23 ±0.000 16	1.315 43 ±0.000 03
37	O	0.524 67 ±0.000 15	-0.099 26 ±0.000 29	1.702 24 ±0.000 01
38	H	0.537 41 ±0.000 16	-0.108 26 ±0.000 27	1.807 77 ±0.000 00
39	O	0.598 77 ±0.000 16	-0.100 38 ±0.000 16	1.784 84 ±0.000 03
40	H	0.622 63 ±0.000 14	-0.132 75 ±0.000 10	1.790 40 ±0.000 04
41	H	0.510 39 ±0.000 11	-0.085 92 ±0.000 31	1.378 04 ±0.000 02
42	H	0.622 17 ±0.000 10	-0.074 03 ±0.000 11	1.211 78 ±0.000 04
43	H	0.642 64 ±0.000 13	-0.088 21 ±0.000 00	1.514 19 ±0.000 05

3 结论

在使用常规 X 射线粉末衍射仪, 测量条件优化后, 可以获得间接测量晶体结构的高分辨率的绿原酸的 X-射线衍射谱图。

根据实测的绿原酸 XRPD 谱图, 采用分子模拟

软件对谱图进行指标化, 确定其所属的晶系和空间群, 利用 Rietveld 方法对晶体结构进行精修, 得到三维晶体结构模型、晶胞中各原子的分数坐标和指标化结果。表明绿原酸样品属于斜方晶系, Pna21 空间群。

[参考文献]

- [1] Ma H Q, Yang J H, Liu H, et al. Powder crystal structure determination of L-5-HTP[J]. Chem Comm, 2009, 12: 1104.
- [2] Kiang Y H, Ashfia H, Stephens P W, et al. Structure determination of enalapril maleate form from high-resolution X-ray powder diffraction data[J]. J Pharm Sci, 2003, 92: 1844.
- [3] Banerjee S, Mukherjee A K, Banerjee I, et al. Synthesis, spectroscopic studies and ab-initio structure determination from X-ray powder diffraction of bis-(N-3-acetophenylsalicylaldiminato) copper() [J]. J Cryst Res Technol, 2005, 40(8): 815.
- [4] Huanga L F, Tong W Q. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates[J]. Adv Drug Deliver Rev, 2004, 56: 321.
- [5] Rebanta B, Jon S, Gregory E, et al. Application of powder X-ray diffraction in studying the compaction behavior of bulk pharmaceutical powders[J]. J Pharm Sci, 2005, 94(11): 2520.
- [6] Harris K D M, Tremayne M, Kariuki B M. Contemporary advances in the use of powder X-ray diffraction for structure determination[J]. Angew Chem Int Ed, 2001, 40: 1626.
- [7] Harris K D M, Cheung E Y. How to determine structures when single crystals cannot be grown: Opportunities for structure determination of molecular materials using powder diffraction data[J]. Chem Soc Rev, 2004, 33: 526.
- [8] David W I F, Shankland K. Structure determination from powder diffraction data[J]. Acta Crystallogr, 2008, A64: 52.
- [9] 孙健, 吴国娟. 绿原酸的研究进展[J]. 中兽医学杂志, 2009, 1: 47.
- [10] Neumann M A. X-Cell: a novel indexing algorithm for routine tasks, and difficult cases[J]. J Applied Cryst, 2003, 36: 356.

[责任编辑 邹晓翠]