

混合溶剂热条件下 DL-Trp 晶体生成过程的研究*

王建¹, 唐丽娟^{1,2}, 刘玮炜¹, 马卫兴¹, 陈龙¹

(1. 淮海工学院江苏省海洋生物技术重点实验室, 江苏连云港 222005;

2. 中国矿业大学, 江苏徐州 221116)

摘要: 以 L-Trp 和碳酸钕为原料, 通过混合溶剂热法制得 DL-Trp 晶体, 并进行红外光谱、单晶 X-衍射等表征。该化合物属单斜晶系 P2 (1) /c 空间群, 具有中心对称结构。a = 1.890 8 (2) nm, b = 0.572 67 (11) nm, c = 0.930 32 (15) nm, Z = 4。此晶体通过 'C-O---H-N' 氢键缔合作用形成三维空间构型。对构型转变原因进行了分析。通过测定溶液体系旋光度-时间曲线可知, L-色氨酸构型变化是一个渐变过程, 降温至 90 °C 左右是色氨酸发生构型转变最显著的温度范围。

关键词: L-色氨酸; DL-色氨酸; 混合溶剂热法; 晶体; 构型; 转变

中图分类号: O743 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2011) 04-0065-05

Investigation on Crystallization of DL-Tryptophan by Mixed Solvent-thermal Method

WANG Jian¹, TANG Lijuan^{1,2}, LIU Weiwei¹, MA Weixing¹, CHEN Long¹

(1. Huaihai Institute of Technology, Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Lianyungang 222005, China;

2. China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China)

Abstract: The DL-tryptophan (DL-Trp) crystal was prepared by the mixed solvent-thermal method between neodymium carbonate and L-tryptophan. The structure was characterized by FTIR, single-crystal X-ray diffraction analyses. The results indicated that the crystallized DL-Trp molecule possessed a centrosymmetric monoclinic space group P2 (1) /c with a = 1.89 08 (2) nm, b = 0.572 67 (11) nm, c = 0.930 32 (15) nm and Z = 4. It showed a three-dimensional structure assembled by hydrogen bond of 'C-O---H-N' interactions. The reasons for changing in configuration and the mechanism of the reaction were investigated by the curves of optical rotation and reaction time. The result indicated the transformation in configuration was a gradual change process. The temperature around 90 °C was important for configuration transforming of Trp.

Key words: L-tryptophan; DL-tryptophan; mixed solvent-thermal method; crystal; configuration transformation

1875年 Kuhne 认为源自生物中一种呈色物质含有吲哚核。1892年 Neumeister 定名为色氨酸。1907年 Ellinger 出色氨酸的结构式, Flaman 用

化学合成法加以确定。色氨酸以游离或结合态广泛存在于生物中。L-色氨酸呈白色或略带黄色的叶片状结晶或粉末, 在稀酸或稀碱中溶解。它与酸在暗

* 收稿日期: 2011-01-06

基金项目: 江苏省教育厅自然科学基金资助项目 (08KJB150002); 江苏省“六大人才高峰”资助项目 (07-A-024); 江苏省海洋生物技术重点建设实验室开放基金资助项目 (2010HS07); 江苏省海洋资源开发研究院科技开放基金资助项目 (JSIMR10E02); 淮海工学院博士科研启动基金资助项目 (KQ09006)

作者简介: 王建 (1962年生), 男, 教授; E-mail: wjsxwhp@yahoo.cn

处加热或在碱液中都较稳定,但存在其他氨基酸或糖类时则易分解,与水共热则产生少量吡啶。*L*-色氨酸如在 NaOH、CuSO₄ 存在下加热,则产生大量吡啶^[1]。目前,国内外有关 *D*-色氨酸的研究报告仍较少^[2-4]。

获得高质量色氨酸单晶体的难度很大,至今在剑桥晶体数据库中收录的几个结构数据都是 *DL*-Trp 的。如 Erik Bye 等^[5] 1973 年通过 X-射线衍射法测定 *DL*-Trp 甲酸盐晶体结构。Bakke 等^[6] 1980 年将 *DL*-Trp 溶于热吡啶冷却后得到的 *DL*-Trp 晶体,将 *DL*-Trp 溶于热草酸水溶液,经缓慢冷却制得 *D*-Trp 草酸氢盐晶体。Christian B 等^[7] 报道 *L*-Trp 甲酸溶剂化物晶体在 183 K 下测定的结构。Hübschle C B 等^[8] 通过将 *DL*-Trp 溶于温热的异丙醇-甲酸饱和溶液缓慢冷却得到晶体并在 173 K 下测定结构。本文作者原打算以 *L*-Trp 和碳酸铍为原料,通过混合溶剂热法制得 *L*-Trp 和铍的配合物,却意外地得到高产率的 *DL*-Trp 单晶体。在反应体系中,Trp 分解现象远少于一般过渡金属离子与 Trp 的反应。经单晶 X 衍射分析对其结构进行了确定,还进行了红外表征和分析,并运用旋光度测定方法研究了构型的转变过程。该发现对开发和应用新型稳定的氨基酸类药物释放载体结晶材料具有重要价值^[9]。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

傅立叶变换红外光谱仪, B 型, 美国 PE; Bruker SMART 1000 CCD 单晶衍射仪。*L*-Trp 为生化试剂(国药集团化学试剂有限公司),碳酸铍为化学纯(连云港丽港稀土有限公司),无水甲醇为分析纯。所有试剂使用前未经进一步处理。25 mL 压力釜(上海羌强实业发展有限公司)。101A-2 数显电热鼓风干燥箱(上海浦东欣悦科学仪器厂)。

1.2 实验过程

1.2.1 *LD*-Trp 的制备 称取 *L*-Trp (图 1) 0.406 4 g (2.0 mmol), 加入体积比为 1:1 的去离子水和甲醇混合溶剂 15 mL, 不断搅拌使之完全溶解, 形成透明溶液。将 0.235 0 g (0.5 mmol) 碳酸铍倒入上述溶液中, 搅拌均匀。将混合液转入 25 mL 容量的特氟隆内胆, 用不锈钢压力釜密封。置于电热鼓风干燥箱中, 升温至 150 °C, 保温 72 h 后, 缓慢以 2 °C/h 降至 100 °C, 再以 5 °C/h 降至室温(30 °C)。得到图 2 所示浅棕黄色长片状晶体, 产率 97.12%。产物在熔点前分解, 熔点低于 *L*-Trp

(280 ~ 285 °C)。该晶体不溶甲醇、乙醇、DMF 和 DMSO。



图 1 *L*-Trp 在显微镜下的照片(放大倍率 5 × 10 × 4)

Fig. 1 The image of *L*-Trp magnified by microscope (5 × 10 × 4)

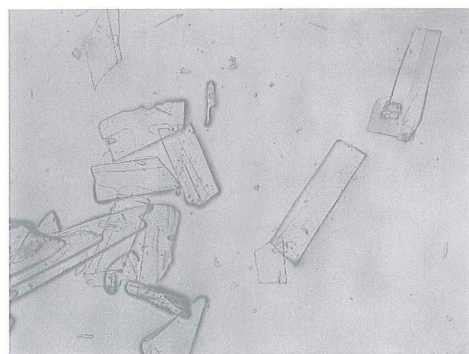


图 2 *DL*-Trp 单晶体在显微镜下的照片(放大倍率 5 × 10 × 4)

Fig. 2 The crystal image of *DL*-Trp magnified by microscope (5 × 10 × 4)

1.2.2 红外光谱 *DL*-Trp 单晶的 IR (KBr 压片) 如图 3 所示。

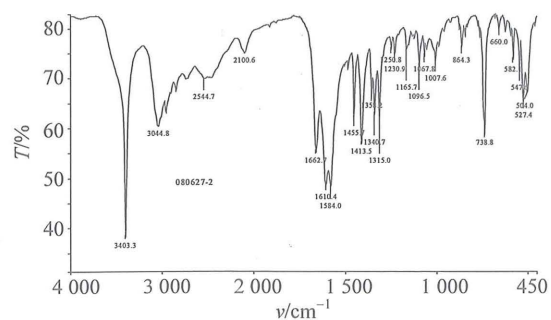


图 3 *DL*-Trp 的红外光谱

Fig. 3 FTIR spectrum of *DL*-Trp

1.2.3 *DL*-Trp 的晶体结构测定 选取尺寸大小为 0.17 mm × 0.15 mm × 0.03 mm 的单晶体置于单晶衍射仪上, 在 298 (2) K 下, 用经石墨单色器单

色化的 $\text{MoK}\alpha$ 射线 ($\lambda = 0.071\ 073\ \text{nm}$), 以 φ - ω 扫描方式收集衍射数据。在 $2.20^\circ \leq \theta \leq 25.01^\circ$ 范围内收集到 4 751 个衍射点, 其中独立衍射点 1 720 个 ($R_{\text{int}} = 0.167\ 8$), $I > 2\sigma(I)$ 的可观测点 746 个。化合物的结构采用 SHELXS-97 程序由直接法解出。对非氢原子坐标及其各向异性温度因子进行全矩阵最小二乘法精修, 所有计算在 PC 机上用 SHELXL-97 程序包完成。其它相关晶体学数据列于表 1。

表1 DL-Trp的晶体学数据和结构参数

Table 1 Crystallographic data of DL-Trp

项目	数据
实验式	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$
相对分子质量	204.23
晶系	单斜晶系
空间群	$P2(1)/c$
a/nm	1.890 8 (2)
b/nm	0.572 67 (11)
c/nm	0.930 32 (15)
$\alpha/(\circ)$	90
$\beta/(\circ)$	101.721 (2)
$\gamma/(\circ)$	90
V/nm^3	0.986 4 (3)
Z	4
$D_c/(\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$	1.375
$\mu(\text{Mo K}\alpha)/\text{mm}^{-1}$	0.097
$F(000)$	432
$\theta/(\circ)$ 范围	2.20 ~ 25.01
指标范围	$-12 \leq h \leq 22, -6 \leq k \leq 6,$ $-11 \leq l \leq 10$
收集的衍射点/ 独立衍射点 (R_{int})	4 751/1 720 (0.167 8)
观测点 [$I > 2\sigma(I)$]	746
R_1, wR_2 [$I > 2\sigma(I)$]	0.090 6, 0.173 0
R_1, wR_2 (all data)	0.192 1, 0.213 0
GOF	1.059
最大衍射峰和谷/ (e nm^{-3})	0.367, -0.276
CCDC	713 377

产物的选择键长和键角如表 2 所示。氢键参数如表 2 所示。

1.2.4 不定形 L-Trp 固体在混合溶剂热条件下转变为 DL-Trp 单晶过程的旋光度测定 称取 L-Trp 1.016 g (5.0 mmol), 加入体积比为 1:1 的去离子水和甲醇混合溶剂 150 mL, 搅拌使之溶解形成透明溶液, 再加去离子水 100 mL 定容至 250 mL。将 0.235 0 g (0.5 mmol) 碳酸钕倒入上述溶液中, 搅匀。将混合液分成 10 组转入 25 mL 容量的特氟隆内胆, 用不锈钢压力釜密封。置于电热鼓风干燥箱中, 升温至 150 $^\circ\text{C}$, 保温 72 h (期间每隔 24 h 取

出一组测旋光度), 缓慢以 2 $^\circ\text{C}/\text{h}$ 降温, 每降 30 $^\circ\text{C}$ 取出一组测旋光度, 降到 30 $^\circ\text{C}$ 为止。所得溶液为浅棕黄色, 经离心后取清液进行旋光度的测定。观测旋光度随时间的变化情况如图 4 所示。

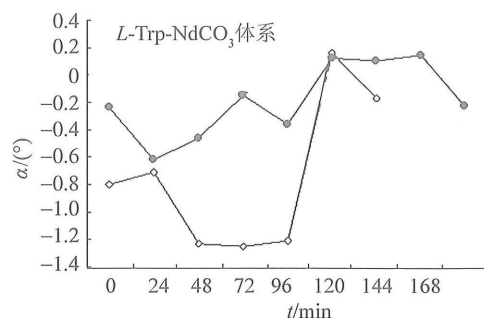


图4 两次测定 L-Trp 构型转变过程旋光度-时间曲线的对比

Fig. 4 Curves of optical rotation α and reaction time of L-Trp configuration transforming by twice measurement

将图 4 所示 L-Trp 在碳酸钕存在下构型变化过程中两次重复测定体系旋光度 $\alpha/(\circ)$ 随时间 t/h 的变化曲线进行对比, 可发现体系旋光度开始均为负值, 随时间变化, 负值趋小, 最后接近为零 (水的旋光度)。

2 结果与讨论

2.1 L-Trp 和 DL-Trp 的红外光谱

比较 L-Trp 和图 3 的 DL-Trp 红外光谱, 主要相关吸收峰的变化由表 3 显示。由于分子中有 NH_3^+ , 出现 3 403 cm^{-1} N-H 伸缩吸收峰, 3 030 ~ 2 060 cm^{-1} 间的 3 个峰分别归属于苯环上 C-H 键的特征吸收, 其中主要峰从 3 038 (S) \rightarrow 3 045 (S), 波数略增。羧基中强的 C=O 吸收从 1 667 \rightarrow 1 663 cm^{-1} , 波数略减。1 591 (S) cm^{-1} 峰则裂分为 1 584 (S) 和 1 610 (S) cm^{-1} 双峰, 1 414 (m) cm^{-1} 峰未变化, 分别归属于面内弯曲 $\nu_{\text{COO}^-}^{\text{as}}$ 和 $\nu_{\text{COO}^-}^{\text{s}}$ 。739 cm^{-1} 归属于吡啶氮的振动吸收峰, 与 L-Trp 的 744 cm^{-1} 相比有所减小, 但吡啶氮未明显参与氢键作用。

2.2 分子结构

图 4 的结构显示 DL-Trp 单晶是由 NH_3^+ 和 COO^- 间的 N-H...O 氢键缔合成对的 D-Trp 和 L-Trp, 同时在每对 D-Trp 和 L-Trp 之间又以对位 NH_3^+ 和 COO^- 间的 N-H...O 氢键缔结而成无限的具有中心对称结构的超分子。这就是该单晶具有较高稳定性的原因。

表 2 DL-Trp 的键长和键角

Table 2 Bond lengths and angles of DL-Trp

键型	键长/nm	键型	键长/mm
N (1) -C (2)	1.488 (5)	C (3) -C (5)	1.476 (6)
N (1) -H (1A)	0.8900	C (4) -C (5)	1.329 (7)
N (1) -H (1B)	0.8900	C (4) -H (4)	0.9300
N (1) -H (1C)	0.8900	C (5) -C (6)	1.440 (6)
N (2) -C (4)	1.371 (6)	C (6) -C (11)	1.378 (7)
N (2) -C (7)	1.378 (6)	C (6) -C (7)	1.417 (7)
N (2) -H (2)	0.8600	C (7) -C (8)	1.355 (7)
O (1) -C (1)	1.243 (5)	C (8) -C (9)	1.363 (8)
O (2) -C (1)	1.247 (5)	C (9) -C (10)	1.379 (8)
C (1) -C (2)	1.524 (6)	C (10) -C (11)	1.349 (7)
C (2) -C (3)	1.516 (7)		
键型	键角/ (°)	键型	键角/ (°)
C (2) -N (1) -H (1A)	109.5	O (1) -C (1) -C (2)	118.4 (4)
C (2) -N (1) -H (1B)	109.5	O (2) -C (1) -C (2)	115.1 (4)
H (1A) -N (1) -H (1B)	109.5	N (1) -C (2) -C (3)	109.7 (4)
C (2) -N (1) -H (1C)	109.5	N (2) -C (4) -H (4)	124.7
H (1A) -N (1) -H (1C)	109.5	C (8) -C (7) -N (2)	130.5 (6)
H (1B) -N (1) -H (1C)	109.5	N (2) -C (7) -C (6)	106.0 (4)
C (4) -N (2) -C (7)	109.4 (4)	N (1) -C (2) -C (1)	108.1 (4)
C (4) -N (2) -H (2)	125.3	N (1) -C (2) -H (2A)	108.6
C (7) -N (2) -H (2)	125.3	C (5) -C (4) -N (2)	110.7 (5)
O (1) -C (1) -O (2)	126.5 (5)		

表 3 DL-Trp 和 L-Trp 的红外光谱比较

Table 3 FTIR analysis of DL-Trp and L-Trp

	$\nu_{\text{NH}_3^+}$	$\nu_{\text{C-H}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{COO}^-}^{\text{as}}$	$\nu_{\text{COO}^-}^{\text{s}}$	$\Delta\nu^{\text{as-s}}$	$\nu_{\text{C}_7\text{H}_6\text{N}}$
L-Trp	3 404	3 038	1 667	1 591	1 414	177	744
DL-Trp	3 403	3 044	1 663	1 584, 1 610	1 414	170, 196	739

2.3 转变机理

为了证明形成 DL-Trp 型单晶过程中 D-Trp 是由部分 L-Trp 转型而来, 作者专门对生产厂商的 L-Trp 试剂产品质量进行了核实, 并测定了试剂 L-Trp 的比旋光度。结果表明 DL-Trp 中 D-Trp 确由部分 L-Trp 转型而来。有趣的是 L-Trp 在一般条件下不稳定易分解, 而在碳酸铈存在下形成单晶时, 不仅发生部分转型, 而且依赖 NH_3^+ 和 COO^- 间的 N-H...O 氢键缔合作用与 D-Trp 一起形成很稳定的单晶体。由于量化计算的软硬件条件和技术水平的限制, 作者未能对 L-Trp 与 D-Trp 形成相应的单晶体结构作理论计算。对于 L-Trp 转型的原因, 虽然 L-Trp 与其他氨基酸相比并不易发生消旋化, 但与 pH 及温度呈现正相关性。有关 L-氨基酸在热碱及高温、高压和一定时间等条件作用下发生异构化或消旋化的研究, 并从各种 L-氨基酸结构特点来探索其变化的规律性曾有报道^[10-15]。L-Trp 的杂环基团为吲哚基, 由于亚甲基与吡咯环产生 σ - π 超共

轭效应, 使 β -C 原子电子向吡咯环转移。吡咯环氮原子上孤对电子可与苯环产生 p- π 共轭效应, 而使电子进一步向苯环分散。这两个共轭效应使 α -C 电子密度大为降低, 共振为烯胺构型的量也降到最少。

作者认为在 Trp 与过渡金属离子 M^{2+} 形成配位聚合物或在碳酸铈存在下形成 DL-Trp 单晶体时, L-Trp 为了满足晶体结构对称性的需要, 在溶液的 pH 值 (弱碱性) 及溶剂效应 (超临界) 的影响下, 克服空间位阻效应, 使一定量的 L-Trp 改变其构型形成 D-Trp。这一点也被目前所获得的部分实验事实所证实^[16-21]: 即通过水热及有机溶剂热法只能得到 $[\text{M}(\text{D-Trp})(\text{L-Trp})]_n$ 型聚合物, 而无法得到 $[\text{M}(\text{L-Trp})_2]_n$ 或 $[\text{M}(\text{D-Trp})_2]_n$ 型聚合物。而且目前色氨酸的单晶体也只能得到外消旋体 DL-Trp。

在水热条件下, 适合的过渡金属离子作为模板剂, 可使部分 L-Trp 通过先形成烯胺构型再逐渐转

变为 *D*-Trp。在 *L*-Trp 和 *D*-Trp 之间存在转换平衡,通过结晶和从溶液体系析出方式使该平衡发生移动,因此有利于低能量构型的配位聚合物和外消旋体 *DL*-Trp 作为新相形成晶核并生长。

2.4 *L*-Trp 转变为 *DL*-Trp 的过程中旋光度的变化

根据图5所示旋光度-时间曲线变化可以看出,在水和甲醇混合溶剂中加热后,反应体系溶液的旋光度先是负值增加。恒温时旋光度变化很小,且在一定范围内波动。开始降温后,溶液旋光度负值逐渐减小,最后稳定在一定范围内。

所以当温度发生改变时,*L*-Trp 发生了构型变化。*L*-Trp 溶液体系旋光度由负值变为零表明,*L*-Trp 构型变化过程是一个渐变过程,该过程与 *DL*-Trp 结晶的成核和晶体形成过程是一致的,由此推断超分子外消旋体 *DL*-Trp 的自组装过程很可能是一个碳酸铵参与下的协同反应过程。

L-Trp 在碳酸铵的催化下形成 *DL*-Trp 过程在降温阶段,尤其降至 90 °C 左右时,部分 *L*-Trp 加速转化为 *D*-Trp,最终降至室温达到平衡,通过成核结晶生成 *LD*-Trp。

参考文献:

- [1] 宋文霞,王瑞明. *L*-色氨酸的研究[J]. 农产品加工·学刊,2005(3):18-20.
- [2] 吴妙宗,蔡辉益. 色氨酸营养代谢研究进展[J]. 畜牧业,2001(11):47-49.
- [3] 王大慧,韦萍,欧阳平凯. *D*-色氨酸研究进展[J]. 化工进展,2002(2):103-105.
- [4] 李剑欣,张绪梅,徐琪寿. 色氨酸的生理生化作用及其应用[J]. 氨基酸和生物资源,2005(3):58-62.
- [5] ERIK B, ARVID M, CHRISTIAN R. Crystal structure of *DL*-tryptophan formate[J]. Acta Chemica Scandinavica, 1973(27):471-484.
- [6] BAKKE Ø, MOSTAD A. The structure and conformation of tryptophan in the crystal of the pure racemic compound and the hydrogen oxalate [J]. Acta Chem Scand; B, 1980, 34:559-570.
- [7] CHRISTIAN B H, BIRGER D, PETER L. *L*-Tryptophan formic acid solvate at 183 K[J]. Acta Crystallographica Section C,2002, C58, o540-o542.
- [8] HÜBSCHLE C B, MESSERSCHMIDT M, LUGER P. Crystal structure of *DL*-Tryptophan at 173 K cryst[J]. Res Technol,2004, 39:274-278.
- [9] 黄岳山,赵修华,吴效明,等. 氨基酸类聚合物材料及其在药物控释系统中的应用[J]. 中国医学物理学杂志,2003(1):39-42.
- [10] 冯淑华. *L*-氨基酸消旋化的结构理论探讨[J]. 安徽师范大学学报:自然科学版,2000, 23(2):149-157.
- [11] 刘志皋. 食品营养学[M]. 北京:轻工业出版社,1991.
- [12] 袁纛,张旭东. 饲料中氨基酸异构体的测定方法及氨基酸异构化研究[J]. 中国农业科学,2001, 34(4):439-444.
- [13] PALLA G, MARCHELLI R, DOSSENA A, et al. Occurrence of *D*-amino acids in food: Detection by capillary gas chromatography and by reversed-phase high-performance liquid chromatography with *L*-phenylalaninamides as chiral selectors[J]. Journal of Chromatography, 1989, 475:45-53.
- [14] BRUECKNER H, JACK P, LANGER M, et al. Liquid chromatographic determination of *D*-amino acids in cheese and cow milk. Implication of starter cultures, amino acid racemases, and rumen microorganisms on formation, and nutritional considerations [J]. Amino acids,1992,2:271-284.
- [15] FRIEDMAN M, GUMBMAN R, BOCA R FA. Absorption and utilization of amino acids[J]. CRC Press,1989, 2:173-190.
- [16] 王建,许兴友,马卫兴,等. 氨基酸配位聚合物[Co(*L*-Trp)(*D*-Trp)]_n[J]. 无机化学学报,2008,24(9):1514-1918.
- [17] WANG J, XU X Y, MA W X, et al. Synthesis and Structure of a two-dimensional double chain iron (II) *L*-Trp coordination polymer[Fe(*L*-Trp)₂(HL-*Trp*)₂]_n[J]. Chin J Struc Chem, 2008, 27(2):153-158.
- [18] 王建,许兴友,马卫兴,等. 混合溶剂热法制备[Zn(*L*-Trp)(*D*-Trp)]_n[J]. 人工晶体学报,2008, 37(5):1199-1204.
- [19] XIE Y, WU H H, YONG G P, et al. rac-Poly [bis-(μ-tryptophanato) manganese (II)] [J]. Acta Cryst E, 2006, 62: m2089-m2090.
- [20] WANG J, XU X Y, MA W X, et al. rac-caten-Poly [nickel (II) -di-μ-tryptophanato] [J]. Acta Cryst E, 2007, 63: m2867-m2868.
- [21] WANG J, XU X Y, MA W X, et al. An Interesting Complex: [Cd(*L*-Trp)(*D*-Trp)]_n[J]. J Ino & Organometallic Polymers & Materials, 2009, 19(3):53-58.