

Crystallization Optimization and Structural Characterization of Scopolamine Hydrobromide

Pengpeng Chen^{1*}, Zeyu Wu¹, Kun Xu², Ailing Hui¹, Wencheng Zhang¹

¹Engineering Research Center of Bio-Process from Ministry of Education, School of Food Science and Engineering, Hefei University of Technology, Hefei Anhui

²Anhui Dexinjia Biological Medicine Co. Ltd., Fuyang Anhui

Email: *1429439950@qq.com

Received: Aug. 9th, 2018; accepted: Aug. 20th, 2018; published: Aug. 27th, 2018

Abstract

In this article, a preparation method of scopolamine hydrobromide by freezing crystallization was developed. After Flosdaturae extract with the purity of scopolamine of 83% dissolved, the purification of scopolamine and preparation of scopolamine hydrobromide were achieved by addition of hydrobromic acid to form the salt, and freezing crystallization. The influence of solvent and crystallization time was investigated on the crystallization process. The crystallization solvent was determined to be ethanol and the crystallization time was 8 h. The purity of scopolamine hydrobromide crystals was determined to be 99.40% by high performance liquid chromatography. And the recovery rate was 73.24%. The crystals were detected by Fourier infrared spectroscopy and the results showed that the functional groups meet the requirements in the pharmacopoeia. X-ray diffraction analysis showed that the crystallinity was better.

Keywords

Scopolamine Hydrobromide, Freezing Crystallization, Structural Characterization

氢溴酸东莨菪碱结晶工艺优化及结构表征

陈朋朋^{1*}, 吴泽宇¹, 许坤², 惠爱玲¹, 张文成¹

¹合肥工业大学食品科学与工程学院, 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥

²安徽德信佳生物医药有限公司, 安徽 阜阳

Email: *1429439950@qq.com

收稿日期: 2018年8月9日; 录用日期: 2018年8月20日; 发布日期: 2018年8月27日

*通讯作者。

摘要

本文论述了一种氢溴酸东莨菪碱的结晶工艺及其结构的表征。以东莨菪碱含量83%的洋金花提取物为原料,通过加酸成盐和冷冻结晶的方法,在对其纯化的同时得到临床用药氢溴酸东莨菪碱。考察了溶剂、结晶时间对结晶的影响,确定了溶剂为乙醇,结晶时间为8 h。制得的晶体经液相色谱检测其纯度为99.40%,算得回收率为73.24%。将制得的晶体经红外检测符合药典对其官能团的规定,经X-射线衍射分析表明结晶度较好。

关键词

氢溴酸东莨菪碱, 冷冻结晶, 结构表征

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

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

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



Open Access

1. 引言

东莨菪碱(Scopolamine)是一种莨菪烷型生物碱,主要存在于茄科植物颠茄类和曼陀罗类中,是洋金花、赛莨菪和天仙子中主要的生物碱。东莨菪碱的药效主要基于其抗毒蕈碱作用。作为毒蕈碱阻滞剂,东莨菪碱竞争毒蕈碱受体,打断副交感神经的支配[1] [2] [3] [4] [5]。在临床上,主要用于镇痛、麻醉、抗晕动症、治疗帕金森症、改善微循环、戒毒脱瘾、治疗农药中毒等[6] [7]。同时,东莨菪碱与莨菪碱或阿托品(莨菪碱的外消旋形式)相比,具有不良反应少,疗效强的特点[8]。随着东莨菪碱药理的研究开展,其应用更加广泛,市场需求十分巨大。因此,东莨菪碱的制备得到了广泛的关注。

东莨菪碱易消旋不易保存,所以临床上主要用其氢溴酸盐。本文将洋金花提取物溶解后,通过加酸成盐和冷冻结晶的方法,制得氢溴酸东莨菪碱晶体;主要考察了结晶溶剂、结晶时间对晶体的影响,最终选择结晶溶剂为乙醇、结晶时间为8 h。然后通过傅里叶红外光谱仪、X-射线衍射仪、场发射扫描电子显微镜对晶体进行了表征。

2. 材料与设备

东莨菪碱粗品(纯度为83%)自制,氢溴酸东莨菪碱对照品(纯度99%)购合肥馭成仪器有限公司(代理);甲醇、无水乙醇、乙酸乙酯、氢溴酸、乙酸铵、三乙胺等均购置国药化学试剂有限公司;去离子水实验室自制。

高效液相色谱仪(1260,美国安捷伦);电子天平(JA2003,美国希特);真空干燥箱(DZF-6050,上海一恒科学仪器有限公司);SC2201型超声波处理器(上海小岩工贸发展有限公司);傅里叶红外光谱仪(NICOLET 5700,美国NICOLET公司);X-射线衍射仪(D/MAX2500V,日本电子公司);场发射扫描电子显微镜(SU8020,Hitachi)。

3. 试验方法

3.1 色谱条件

液相条件: Eclipse Plus C18 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 柱温 35℃; 检测波长 215 nm; 流速 1

mL/min; 进样量 20 μ L; 流动相: 甲醇—0.02 mol/L 乙酸钠溶液(加入 0.01% 三乙胺) (体积比 = 40/60) [9]。

3.2. 结晶条件的考察

3.2.1. 结晶溶剂的选择

称取 100 mg 洋金花提取物, 分别加入到 500 μ L 甲醇、乙醇、去离子水中, 然后加入 150 μ L 40% 的氢溴酸, 放置在搅拌器混合均匀后, 放入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱 12 h 后拿出, 观察结晶。

3.2.2. 结晶时间对结晶的影响

称取 125 mg 洋金花提取物, 加入到 500 μ L 乙醇中, 然后加入 150 μ L 40% 的氢溴酸, 放置在搅拌器混合均匀后, 分别放入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱 4, 6, 8, 10, 12 h 后取出。将溶液过滤, 并使用 -20 $^{\circ}$ C 的乙醇洗去晶体表面残留杂质, 然后放入真空干燥箱中 40 $^{\circ}$ C 下干燥 12 h。然后用液相检测晶体纯度。

3.3. 纯度及回收率的测定

将结晶后的晶体干燥后, 称取 2 mg 结晶放入 5 mL 的容量瓶, 用流动相定容至刻度线。样品使用前均经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤。精密吸取样品溶液 20 μ L 注入液相色谱仪测定溶液浓度。根据液相图的峰面积及标准曲线算出晶体纯度。

回收率按下面公式计算:

$$\text{回收率} = \frac{m_{\text{结晶}} \times p_{\text{纯度}}}{1.445 \times m_{\text{低浓度}} \times 0.83}$$

其中 $m_{\text{结晶}}$ 为晶体干燥后的质量, mg; $p_{\text{纯度}}$ 为样品的纯度, %; $m_{\text{低浓度}}$ 为东莨菪碱粗品的质量, mg; 1.445 是氢溴酸东莨菪碱与东莨菪碱的摩尔质量比; 0.83 是结晶原料中东莨菪碱的含量。

3.4. 晶体的红外光谱分析

称取 100~200 mg 溴化钾, 置于玛瑙研钵中研磨至粒度小于 2 μ m, 小心将粉末转移至压片容器中, 在 27 Mpa 下作用 3~5 min, 得空白压片, 置空白压片于红外光谱仪器下测定背景。然后称取 1~2 mg 氢溴酸东莨菪碱标准品和 100~200 mg 溴化钾, 混合均匀, 按上述方法压片测定, 得到标准品的红外光谱图。再称取 1~2 mg 得到的氢溴酸东莨菪碱晶体和 100~200 mg 溴化钾, 混合均匀, 按上述方法压片测定, 得到样品的红外光谱图。

3.5. 晶体的形貌观察

利用场发射扫描电镜对晶体进行表征。观察晶体的表面及截面的结构。

3.6. X-射线衍射分析

采用粉末衍射法, 利用 F/MAX 2500V 型号 X 射线衍射仪对晶体样品进行观察。工作条件: 波长 0.14 nm, 高压 40 KV, 管流 100 Ma, 扫描速度 8 $^{\circ}$ /min。将结晶出来的样品进行 X 射线衍射测定。

4. 实验结果

4.1. 结晶溶剂对结晶的影响

从表 1 中可以看出, 当溶液浓度为 100 mg/mL 时, 用甲醇做结晶溶剂时, 有少量晶体析出; 用乙醇做结晶溶剂时, 有较多晶体析出; 用去离子水做结晶溶剂时, 无晶体析出。说明氢溴酸东莨菪碱在三种溶剂中的溶解度大小为去离子水 > 甲醇 > 乙醇。综合考虑, 选择乙醇作为结晶溶剂。

4.2. 冷冻时间对结晶的影响

由图 1 中可以看出,随着冷冻时间的增加,晶体的纯度变化不明显。尽管有下降的趋势,但纯度均达到了 99% 以上。随着冷冻时间的增加,晶体的回收率显著增加。8 h 时,晶体纯度 99.40%,回收率为 73.24%。晶体的生长需要一定的时间,当 4 h 和 6 h 时,晶体未生长完全,所以回收率较低。当结晶时间大于 8 h 时,晶体的回收率增加较少,说明晶体已经大量析出。综合考虑确定冷冻结晶为 8 h。

4.3. 晶体的红外光谱

从图 2 可以看到,晶体特征峰有 3375 cm^{-1} (胺 NH 伸缩振动峰), 1649 cm^{-1} 和 1603 cm^{-1} (芳香烃 C-C 伸缩振动峰,双峰), 735 cm^{-1} (芳香烃 C-H 变形振动), 2932 cm^{-1} (芳香烃 C-H 伸缩振动), 1727 cm^{-1} (酯 C=O 伸缩振动), 1153 cm^{-1} 和 1070 cm^{-1} (酯 C-O-C 伸缩振动)。红外光谱同时表明在 $3000\pm 3500\text{ cm}^{-1}$ 范围内有一个强的吸收带。这个非常宽的频带表明了强氢键的存在。通过对结晶后的氢溴酸东莨菪碱红外图与氢溴酸东莨菪碱标准品红外图相比较,可以看出制得的晶体与标准品的红外光谱图在峰形,峰的位置和峰的强度上都没有明显差异,说明得到的氢溴酸东莨菪碱的结构符合药典中的红外标准。

4.4. 晶体的形貌

从图 3 中可以看到,得到的氢溴酸东莨菪碱晶体为四棱柱状晶体,横截面为四边形。晶体的直径平均在 $250\text{ }\mu\text{m}$ 左右。晶体表面相对整齐,无明显缺口。晶体形状相对规则,不易携带杂质,并且有利于洗

Table 1. Effect of solvent on crystallization

表 1. 溶剂对结晶的影响

溶剂	甲醇	乙醇	去离子水
结晶情况	少量结晶	较多结晶	无结晶

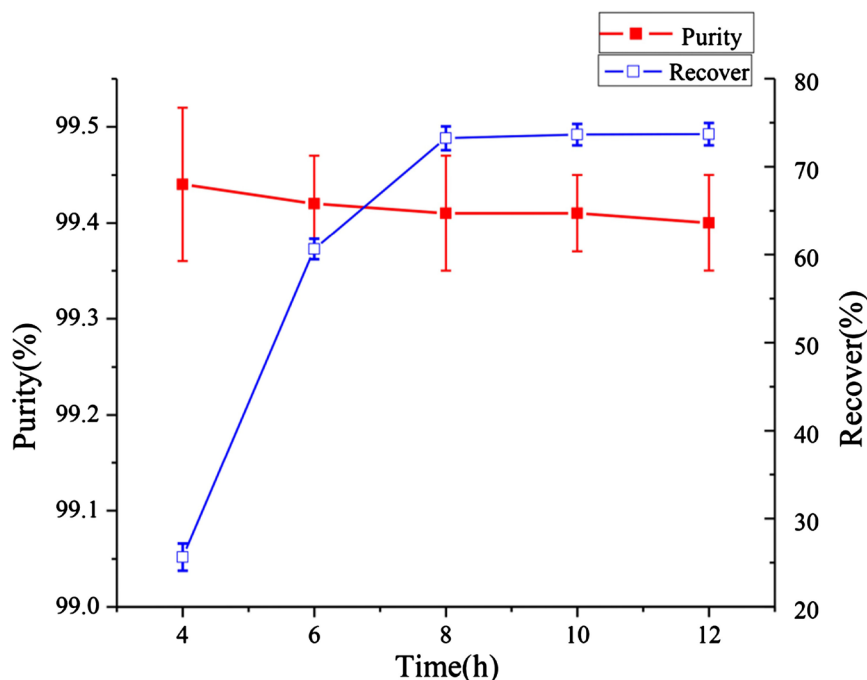


Figure 1. Effect of freezing time on crystallization

图 1. 冷冻时间对结晶的影响

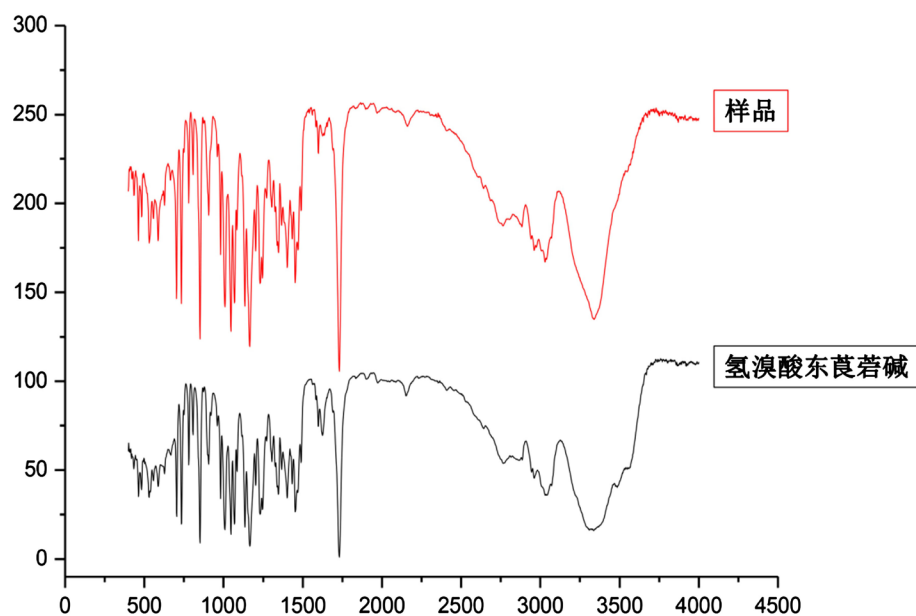


Figure 2. Infrared spectra of scopolamine hydrobromide samples and standards
图 2. 氢溴酸东莨菪碱样品及标品的红外光谱图



Figure 3. The SEM image of scopolamine hydrobromide
图 3. 氢溴酸东莨菪碱的扫描电镜图

涤晶体表面携带的杂质。

4.5. X 射线衍射结果

由图 4 可以看出, 氢溴酸东莨菪碱的结晶效果非常好, 没有发现馒头峰, 说明样品中不存在非晶体。衍射峰的位置(2θ)是由晶体的周期性点阵决定的, 而各个衍射点的强度是由晶胞中原子的分布决定。从图中可以看出氢溴酸东莨菪碱的衍射峰锋形较尖锐, 说明氢溴酸东莨菪碱晶体的结晶度较高。

5. 结论

本文通过将东莨菪碱含量为 83% 的洋金花提取物溶解后, 通过加酸成盐和冷冻结晶, 实现东莨菪碱的结晶纯化, 并制得临床用药氢溴酸东莨菪碱; 确定结晶溶剂为乙醇, 结晶时间为 8 h。制得的晶体经液

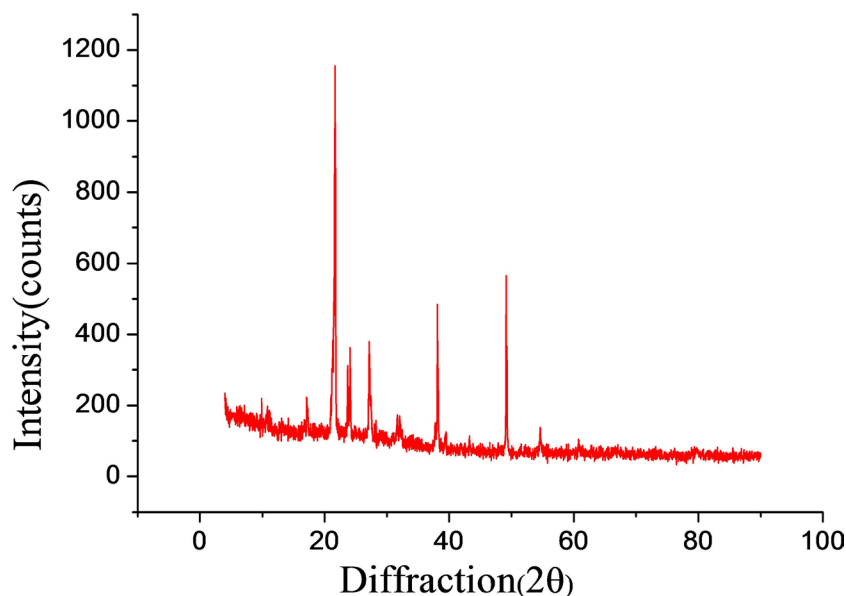


Figure 4. The X-ray diffraction pattern of scopolamine hydrobromide
图 4. 氢溴酸东莨菪碱晶体的 X-衍射图

相色谱检测其纯度为 99.40%，回收率为 73.24%。获得较规则的四棱柱状晶体，其经红外光谱检测达到中国药典的规定，X-射线衍射分析表明结晶度较好。

基金项目

基金项目：2016 年安徽省科技重大专项项目(16030801111)。

参考文献

- [1] Berkov, S., Zayed, R. and Doncheva, T. (2006) Alkaloid Patterns in Some Varieties of *Daturastramonium*. *Fitoterapia*, **77**, 179. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.01.002>
- [2] Klinkenberg, I. and Blokland, A. (2010) The Validity of Scopolamine as a Pharmacological Model for Cognitive Impairment: A Review of Animal Behavioral Studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **34**, 1307-1350. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.04.001>
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 267.
- [4] 井佳楠, 吕邵娃, 王秋红, 等. 洋金花化学成分和药理作用及临床应用研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(19): 3513-3521.
- [5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [6] 谷福根, 吴春芝, 等. 东莨菪碱的临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2008, 19(11): 870-873.
- [7] Yaiviada, Y. and Tabata, M. (1997) Plant Biotechnology of Tropanealkaloids. *Plant Biotechnology*, **14**, 1-10. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.14.1>
- [8] Takashi Hashimoto, D.-J.Y. and Yamada, Y. (1993) Production of Tropane Alkaloids in Genetically Engineered Root Cultures. *Phytochemistry*, **32**, 713-718. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)95159-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)95159-8)
- [9] 彭拓华, 钟世顺, 张少俊, 陈晓萍, 曾凡. 三种提取方法提取洋金花生物碱的比较研究[J]. 中成药, 2012(5): 832-835.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2161-8844，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：hjcet@hanspub.org