



УДК 543:541; 544.344.9; 66.974.434

Молекулярная сорбция БАВ из концентрированных водно-солевых растворов

Савельев Е.А., Ковалевская А.Л.

ООО НПФ "Файн Кемикалс", Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 20.05.2011 г.

Аннотация

Изучено фазовое равновесие в системах, содержащих водный раствор минерального электролита, соли ряда биологически активных соединений и неионогенный сорбент. Показано, что рост концентрации минерального электролита в фазе раствора обуславливает высаливающий эффект на молекулярную сорбцию гидрофобных солей БАВ, что хорошо согласуется с правилом А.Б.Здановского. Выявленная высокая сорбционная емкость синтетических высокопористых неионогенных полимеров может быть использована для выделения солей β-лактамных антибиотиков, а также некоторых других БАВ из водных растворов с высокой концентрацией минеральных солей.

Ключевые слова: соли БАВ, молекулярная сорбция, фазовое равновесие, минеральный электролит, высаливающий эффект

Studied the phase equilibrium in systems containing an aqueous solution of electrolyte minerals, salts of biologically active compounds and non-ionic sorbent. Shown that the increase in the concentration of mineral electrolyte solution phase leads to salting out effect on the molecular sorption of hydrophobic salts BAS, which is consistent with the rule A.B. Zdanovsky. Identified high sorption capacity of highly non-ionic synthetic polymers can be used to separate salt β-lactam antibiotics, as well as certain other biologically active substances from aqueous solutions with high concentration of mineral salts.

Keywords: salt BAS, molecular adsorption, phase equilibria, mineral electrolyte salting out effect

Введение

Водные растворы с высокой концентрацией минерального электролита и с относительно небольшим содержанием целевых органических соединений достаточно часто образуются в биосинтетических и химико-технологических процессах получения биологически активных веществ (БАВ). Так, например, в результате выделения натриевых солей 6-(фенил-5-метилизоксазол-4-карбамино)-пенициллановой кислоты (оксациллина), 6-[3-(2,6-дихлорфенил)-5-метилизоксазол-4-карбамино]-пенициллановой кислоты (диклоксациллина), 7-(1-Н-тетразол-1-ил)-ацетамидо-3-(2-метил-1,3,4-тиадиазол-5-ил)тиометил-3-цефем-4-карбоновой кислоты (цефазолина), 7-[[2-аминотиазол-4-ил)-2-син-метоксимино]ацетамидо}-3-[[2,5-дигидро-6-гидрокси-2-метил-5-оксо-1,2,4-триазин-3-ил)тио]метил}-3-цефем-4-

карбон-вой кис-лоты (цефтриаксона) методами высаливающей кристаллизации [1-5] образуются водные маточные растворы, содержащие от 10 до 20 % хлорида или ацетата натрия и от 2 до 10 % натриевой соли целевого антибиотика. Аналогичное соотношение минерального и органического электролита имеет место в нативных растворах производства некоторых антибиотиков, например, в нативном растворе рубомицинового комплекса. Выделение целевых продуктов из подобных растворов представляет собой важную задачу не только для достижения удовлетворительных коммерческих задач, но и для обеспечения экологической безопасности производства.

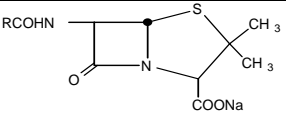
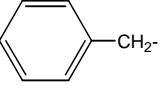
Традиционным вариантом решения вопроса выделения или концентрирования органических соединений, присутствующих в растворе в следовых или незначительных концентрациях, является ионный обмен на синтетических полиэлектролитах [6]. Выделение или концентрирование органических соединений из растворов, содержащие конкурирующих минеральных солей в которых многократно превышает концентрацию целевых продуктов, возможно за счет высокой избирательности ионитов к последним. Для ряда органических соединений, как показано в работах Г.В.Самсонова [7-9], высокая избирательность к гидрофобным органическим соединениям достигается как за счет энтальпийной составляющей, обусловленной дополнительным взаимодействием в полимерной фазе по типу сорбент- сорбат, так и энтропийного фактора. Последний обусловлен восстановлением структуры воды в растворе при переходе органического соединения из фазы раствора в полимерную фазу.

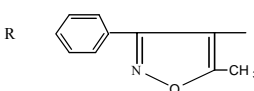
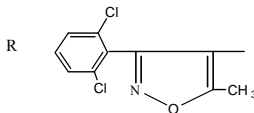
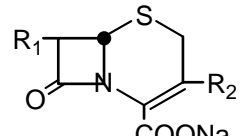
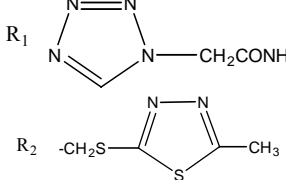
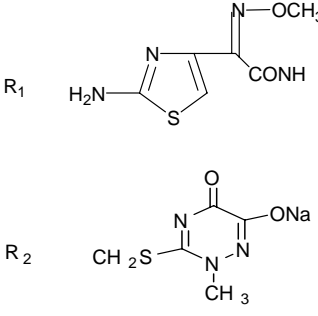
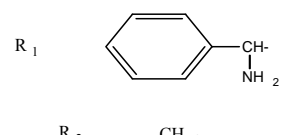
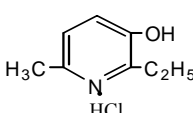
Использование неионогенных сорбентов, обладающих высокоразвитой поверхностью, сохраняет перечисленные выше возможности избирательной сорбции органических соединений на ионообменные смолы и обеспечивают ряд важных дополнительных преимуществ: отсутствие конкурирующего влияния минерального электролита, лучшие по сравнению с ионным обменом кинетические характеристики процессов сорбции-десорбции, возможность десорбции лабильных БАВ в мягких условиях водными растворами полярных органических растворителей.

Эксперимент

Растворы БАВ получены из соединений, отвечающих требованиям соответствующих фармакопейных статей. Характеристики исследованных соединений приведены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика исследованных в работе БАВ

Соединение	Структура	Физико-химические свойства
1	2	3
Пенициллины		
Бензилпенициллина К-соль	R 	Легко растворима в воде, ограниченно растворима в спиртах, мало растворима в инертных растворителях. pKa -2,75, aw нас.р-ра <0,7

1	2	3
Оксациллина Na-соль		Легко растворима в воде, ограниченно растворима в спиртах, мало растворима в инертных растворителях. $pK_a - 3,0$, a_w нас.р-ра $>0,8$
Диклоксациллина Na-соль		Легко растворима в воде, ограниченно растворима в спиртах, мало растворима в инертных растворителях, $pK_a - 2,76$, a_w нас.р-ра $>0,8$
Цефалоспорины		
Цефазолина натриевая соль		Легко растворима в воде, очень мало растворима в спирте этиловом, a_w нас.р-ра $>0,8$
Цефтриаксона динатриевая-соль		Легко растворима в воде, ограниченно растворима в спиртах, мало растворима в инертных растворителях, a_w нас.р-ра $>0,8$
Цефалексина натриевая соль		Легко растворима в воде, ограниченно растворима в спиртах, мало растворима в инертных растворителях. $pK_a - 2,75$, a_w нас.р-ра $<0,7$
2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина гидрохлорид (Эмоксипин)		Легко растворим в воде, мало растворим в спирте, a_w нас.р-ра $>0,75$

Характеристика использованных в работе сорбентов представлена в табл.2.

Сорбенты готовили к работе по следующей методике. В химический стакан вместимостью 500 мл загружали 300 мл дистиллированной воды и 100 г неионогенного сорбента, выдерживали при периодическом перемешивании 8-10 часов. Набухший сорбент загружали в стеклянную колонку диаметром 25 мм. Через слой сорбента со скоростью 5-10 мл/мин пропускали ацетон в количестве, необходимом для полного удаления из слоя сорбента опалесцирующих веществ. Контроль осуществляли визуально в пробах фильтрата, разбавленных в 4-5 раз дистиллированной водой. Для удаления ацетона колонку промывали

дистиллированной водой в количестве 300 мл. Далее через слой сорбента со скоростью 8-10 мл/мин пропускали 400 мл водного раствора едкого натра с массовой долей щелочи 4%. Сорбент выдерживали под слоем щелочного раствора 6-8 часов и со скоростью 8-10 мл/мин пропускали 100 мл того же щелочного раствора. Отмывку сорбента от щелочи осуществляли дистиллированной водой в объеме, необходимом для достижения величины водородного показателя выходящей из колонки воды 8,5-9,0 рН. Затем через колонку последовательно пропускали со скоростью 4-5 мл/мин 200 мл водного раствора серной кислоты с массовой концентрацией кислоты 2-3% и 200 мл дистиллированной воды.

Таблица 2. Характеристика использованных в работе сорбентов

Сорбент	сополимеры	удельная поверхность, м ² /г	удельный объем пор, см ³ /г	изготовитель
1. Амберлит ХАД-4	стирол – дивинилбензол (СДВБ)	750	0,96	США
2. Полисорб С 60/100	СДВБ	550	0,99	Япония
3. Поролас Т	СДВБ	700	0,65	ВНИИХТ

Через подготовленные таким образом сорбенты со скоростью 5-10 мл/мин пропускали растворы солей перечисленных в табл. 1 соединений до достижения состояния равновесия, которое фиксировалось по выравниванию концентраций исследуемых БАВ на входе и выходе раствора из колонки в нескольких последовательных пробах. Концентрацию солей пенициллиновых и цефалоспориновых антибиотиков в растворах определяли поляриметрическим методом с помощью автоматического фотоэлектронного поляриметра А1-ЕПО с рабочей длиной световой волны 589,3 нм, пределы допускаемой погрешности $\pm 0,010$. Концентрацию 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина гидрохлорида в растворах определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 274 нм с помощью спектрофотометра СФ-2000.

Сорбционную емкость рассчитывали по уравнению

$$q = \frac{\sum(c_1 - c_2) \cdot V_p}{V_c}, \text{ где}$$

q - равновесная сорбционная емкость неионогенного сорбента, г/л; c_1 – концентрация БАВ в исходном равновесном растворе, г/л; c_2 – концентрация БАВ в пробе фильтрата, г/л; V_p – объем пробы фильтрата, л; V_c – объем сорбента, л.

Эксперимент

На рис. 1 и 2 представлены изотермы сорбции ряда БАВ на неионогенные сорбенты. Из данных по исследованному равновесию следует, что макропористые сополимеры стирола с дивинилбензолом проявляют заметную селективность к органическим соединениям. Селективность молекулярной сорбции, по-видимому, имеет ту же природу, что и в случае ионообменной сорбции органических ионов: гидрофобный эффект неполярных участков органической молекулы на структуру воды и взаимодействие сорбент – сорбат, в особенности, π -электронное

взаимодействие стирол-дивинилбензольной матрицы с ароматическими фрагментами БАВ [9.10].

Более высокую селективность к неионогенным сорбентам проявляют БАВ, отличающиеся большей гидрофобностью: селективность к диклоксациллину и оксациллину существенно выше, чем к бензилпенициллину. В том же порядке возрастает растворимость этих солей в воде [11]. Дополнительным критерием гидрофобности органических солей может служить величина активности воды в насыщенном растворе солей БАВ. В нашем случае за активность воды в насыщенном растворе БАВ (a_w) мы принимали активность воды в водно-солевом растворе, при которой происходит высаливание органической соли. Ввиду незначительной концентрации БАВ в таком растворе величина a_w с некоторым приближением является функцией концентрации минеральной соли и легко может быть найдена по табулированным в справочниках значениям.

Различие сорбционной емкости Амберлит ХАD-4 и Полисорб С60/100 (рис.2), по-видимому, обусловлена величиной удельной поверхности этих сорбентов.

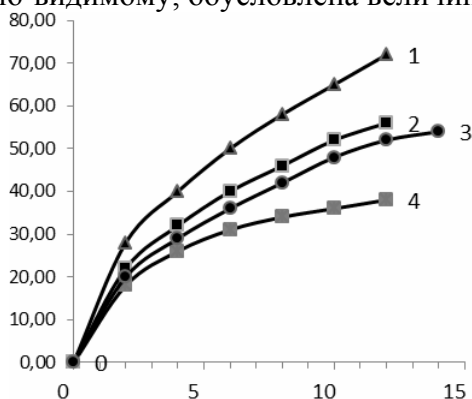


Рис. 1 Изотермы сорбции Na-солей диклоксациллина (1), цефазолина (2), цефтриаксона (3) и K-соли бензилпенициллина (4) на поролас -Т

По оси абсцисс –равновесная концентрация БАВ в растворе, г/л; по оси ординат - равновесная емкость сорбента, г/л

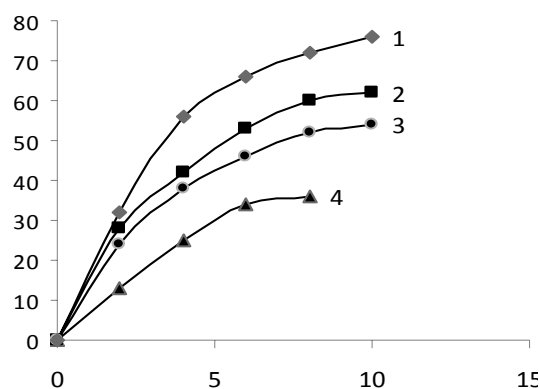


Рис. 2. Изотермы сорбции Na-солей оксациллина(1,3) и цефалексина (2,4) на Амберлит ХАD-4 (1,2) и полисорб С 60/100 (3,4)

На рисунках 3 и 4 представлены изотермы сорбции БАВ из водно-солевых растворов.

Из представленных данных следует, что введение минерального электролита в фазу внешнего раствора приводит к росту сорбционной емкости неионогенных сорбентов к органическим соединениям. Наблюдаемый эффект подобен высаливающей кристаллизации БАВ [5] и высаливающей экстракции [12].

Высаливающий эффект в процессах молекулярной сорбции качественно хорошо объясняется правилом А.Б. Здановского [13], согласно которому многокомпонентные солевые растворы можно рассматривать как смесь бинарных изопиестических растворов с активностью воды, равной многокомпонентному раствору. В этом случае введение минерального электролита в водный раствор БАВ приводит к снижению активности воды в растворе, а бинарный раствор с пониженной активностью воды соответствует более высокой концентрации БАВ по сравнению с исходным раствором до ввода в него электролита. Отсутствие конкурирующего влияния минерального электролита на молекулярную сорбцию БАВ обеспечивает, таким образом, рост сорбционной емкости неионогенных сорбентов.

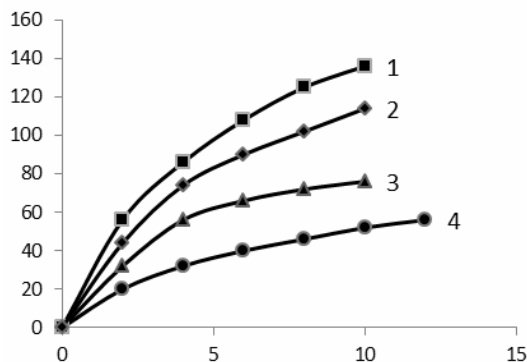


Рис. 3. Изотермы сорбции Na-солей оксациллина(1,3) и цефалексина (2,4) на XAD-4 из водного раствора (3,4) и из 15% водного раствора хлорида натрия (1,2)

По оси абсцисс –равновесная концентрация БАВ в растворе, г/л; по оси ординат - равновесная емкость сорбента, г/л

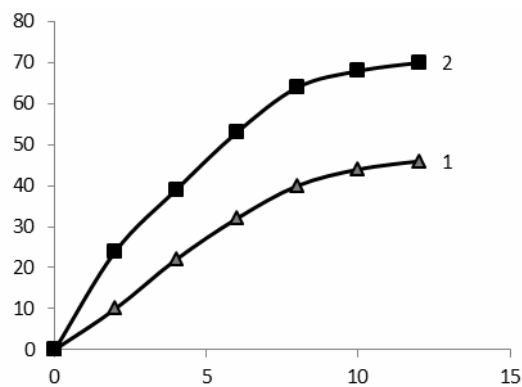


Рис. 4. Изотерма сорбции эмоксипина гидрохлорида на Поролас Т из водного раствора (1) и из 15 % водного раствора хлорида натрия

Одной из особенностей молекулярной сорбции является переход БАВ в фазу полимера из солевой формы в молекулярную, вследствие чего наблюдается защелачивание фильтрата при сорбции анионоактивных БАВ и закисление – при сорбции катионоактивных БАВ. При сорбции БАВ в молекулярной форме возрастает емкость неионогенных сорбентов. Однако возможности сорбции БАВ в молекулярной форме ограничены их растворимостью и стабильностью в водных растворах. С целью обеспечения селективной молекулярной сорбции таких соединений в [14] предложен смешанный слой сорбентов, состоящий из неионогенного сорбента и катионита в H^+ -форме или анионита в форме свободного основания.

Возможность десорбции БАВ из фазы неионогенного сорбента в мягких условиях иллюстрирует рис.5: при переходе от водных растворов к растворам полярных органических растворителей селективность сорбентов к гидрофобным молекулам резко снижается, что позволяет получать элюат с высокой концентрацией БАВ.

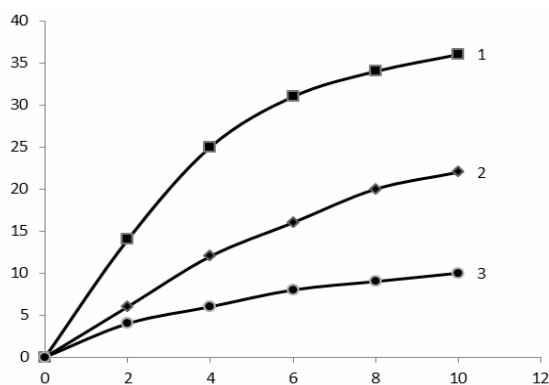


Рис. 5. Изотермы сорбции бензилпенициллина на Поролас Т из водных (1) водно-изопропанольных растворов, содержащих 15 % и (2) и 30 % (3) спирта. По оси абсцисс – равновесная концентрация БАВ в растворе, г/л; по оси ординат – равновесная емкость сорбента, г/л.

Заключение

Изучено равновесие молекулярной сорбции ряда биологически активных веществ на макропористые неионогенные сорбенты Амберлит XAD-4, Поролас Т и Полисорб С 60/100 из водных и водно-солевых растворов.

Показано, что селективность сорбции БАВ из водных растворов определяется теми же факторами, что и селективность ионного обмена, подробно рассмотренная в работах Г.В.Самсонова.

Выявлено высаливающее действие минерального электролита на молекулярную сорбцию БАВ. Показано, что наблюдаемый эффект объясняется отсутствием конкурирующего влияния минерального электролита и представлениями А.Б.Здановского, согласно которому многокомпонентные солевые растворы можно рассматривать как смесь бинарных изопиестических растворов с активностью воды, равной многокомпонентному раствору.

Выявленная высокая сорбционная емкость макропористых неионогенных сорбентов к ряду солей пенициллиновых и цефалоспориновых антибиотиков может быть использована для выделения этих соединений из маточных растворов, образующихся в процессе высаливающей кристаллизации БАВ из реакционной массы.

Список литературы

1. Пат. № 2043359 РФ, IPC: C07D499/16; C07D499/00; (IPC1-7): C07D499/16. Способ получения Na-соли 6-(3-фенил-5-метил-изоксазол-4-карбамино) -пенициллановой кислоты.
2. Пат. № 2357960 РФ, IPC: C07D499/16; C07D499/00; (IPC1-7): C07D499/16. Способ получения Na-соли 6-[(3-(2,6-дихлор-фенил)-5-метил-изоксазол-4-карбамино)] -пенициллановой кислоты.
3. Пат. № 2244716 РФ, IPC: C07D501/02; 501/36. Способ получения натриевой соли 7-(тет-разол-1-ил)-ацетамидо-3-(2-метил)-3-цефем-4-карбоновой кислоты (цефазолина).
4. Пат. № 2382790 РФ, IPC: C07D501/36, 501/02, 501/12. Способ получения динатриевой соли гемигептагидрата 7-[[2-амиинотиазол-4-ил)-2-син-метоксиимино] ацетамидо}-3-[[2,5-дигидро-6-гидрокси-2-метил-5-оксо-1,2,4-триазин-3-ил)тио]метил}-3-цефем-4-карбоно-вой кислоты.
5. Савельев Е.А., Волкова И.М. Высаливающая кристаллизация солей β-лактамных антибиотиков // Журнал прикладной химии. 2000. т. 73. Вып. 10. С. 1727-1732.
6. Самсонов Г.В. Ионный обмен. Сорбция органических веществ, Л.: Наука, 1969. С.181-217
7. Самсонов Г.В., Меленевский А.Т. Сорбционные и хроматографические методы физико-химической биотехнологии. – Л.: Наука, 1986. – 225 с.
8. Самсонов Г.В. Термодинамические, кинетические и динамические особенности ионного обмена с участием ионов органических веществ / Ионный обмен. – М., 1981. – С. 126.
9. Савельев Е.А., И.Г.Соколова, Фалина С.В. Выделение хлортетрациклина методом молекулярной сорбции. // Журнал прикладной химии. 1994. т. 67. Вып. 9., С. 1495-1498.

10. Лосева Л.Д., Савельев Е.А.. Сорбция фенолов из промышленных сточных вод макропористыми сополимерами стирол-дивинилбензольного типа. // Журнал прикладной химии. 1991. т. 64. Вып. 7. С. 1251-1256.

11. Савельев Е.А., Беляева О.Я. Исследование метастабильной и равновесной растворимости солевых форм полусинтетических пенициллинов// Антибиотики и медицинская биотехнология. 1985, №6, С. 178-181.

12. Савельев Е.А., А.Н.Пушков. Экстракционное равновесие в системах вода-изопропанол-электролит-биологически активные вещества.//1994, т.49, № 11, С. 1174-1176.

13. Микулин Г.И., Вознесенская И.Е. Теория смешанных растворов электролитов, подчиняющихся правилу Здановского. Часть III. Четверные водные взаимные системы// Вопросы физической химии растворов электролитов: Сб. статей/ Под ред. Г.И. Микулина. Л.: Химия, 1968. С.346-360.

14. Пат. № 1400658 РФ, IPC: B01 J39/00,20/00. Сорбент для сорбции солей малорастворимых и нестабильных в водных растворах органических кислот.

Савельев Евгений Александрович – д.х.н., руководитель отдела развития ООО НПФ «Файн Кемикалс», Санкт-Петербург.

Ковалевская Анна Леонидовна – главный технолог ООО НПФ «Файн Кемикалс», Санкт-Петербург.

Savelyev Evgeny A. – Dr.Sci., Head of research department LLC Research and production firm “Fine Chemicals”, St. Petersburg.

Kovalevskaya Anna L. – General technologic LLC Research and production firm “Fine Chemicals”, St. Petersburg