

支撑液膜法制备头孢氨苄的研究

陆莹莹, 高晓冲, 高 灿, 常洪委, 高瑞昶*

(天津大学化工学院, 天津 300072)

摘要: 建立一个三相体系, 实现对头孢氨苄的合成与分离。对支撑液膜及其传质机理进行了简要介绍。实验中, 以 Isopar L 为萃取剂, 甲基三辛基氯化铵 (Aliquat 336) 为载体, 1-癸醇为载体助溶剂。萃取部分考察了进料相头孢氨苄的浓度、进料液 pH、进料相和有机相体积比对萃取率的影响。反萃部分考察了反萃液 pH 对反萃率的影响, 对比了几种反萃液的反萃效果, 最终选择 pH = 9.0 的 D-苯甘氨酸甲酯盐酸盐 (PGME) 溶液作为反萃液。选择进料头孢氨苄浓度为 20 mmol/L, 进料液 pH 为 9.0, 进料相与有机相体积比为 1:1 进行实验, 得到头孢氨苄的最终收率为 58.43%。

关键词: 头孢氨苄; 甲基三辛基氯化铵; 支撑液膜; 萃取; 反萃

中图分类号: TQ465.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2014)01-0052-04

Preparation of cephalixin by supported liquid membrane

LU Ying-ying, GAO Xiao-chong, GAO Can, CHANG Hong-wei, GAO Rui-chang*

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

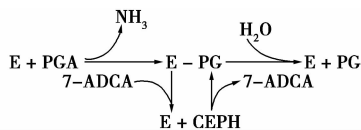
Abstract: A three-phase system is established to achieve the synthesis and separation of cephalixin. The supported liquid membranes and their transport mechanism are briefly introduced. The Isopar L, Aliquat336 and 1-decanol are used as extractant, carrier and carrier cosolvent, respectively. The effects of cephalixin concentration in the feed aqueous, pH of the feed aqueous, and the volume ratio of organic phase and feed phase on extraction effect are investigated. At the same time, the effect of pH of stripping solution and liquid strippings on the stripping rate is examined with D-phenylglycine methyl ester hydrochloride (PGME) solution of pH = 9.0 as the stripping solution. The final yield of cephalixin is 58.43% under the following conditions: 20 mM of cephalixin concentration in the feed solution, 9.0 of aqueous pH and 1:1 volume ratio of feed phase and organic phase.

Key words: cephalixin; Aliquat336; supported liquid membranes; extraction; stripping

头孢氨苄作为头孢菌素类抗生素中应用最广的品种之一, 其制备工艺一直备受关注, 工业上一般经过 10 步化学反应合成制得^[1]。与传统化学法相比, 酶法合成头孢氨苄具有反应条件温和, 工艺操作简单, 无需基团保护, 清洁安全等优点^[1]。酶法合成头孢氨苄既可以通过动力学控制, 也可以通过热力学控制, 而动力学是较常用的方法^[2]。其动力学过程为在青霉素 G 酰基转移酶的作用下, 以活性酰基供体 D-苯甘氨酸酰胺 (PGA) 或 PGME 和母核 7-氨基-3-去乙酰氧基头孢烷酸 (7-ADCA) 为底物合成

头孢氨苄, 反应方程式如图 1 所示^[3]。由图 1 可以看出, 此反应存在 2 个副反应: 一是生成的头孢氨苄的水解反应; 二是 PGA 水解生成副产物苯甘氨酸 (PG)。尽管酶法合成有诸多优点, 但仍难以解决头孢氨苄收率低和难以从反应混合物中分离的问题。

目前, 头孢氨苄的分离回收有诸多种方法。Schroën 等^[4]研究了向反应混合物中加入络合剂生成水不溶性沉淀的方法分离头孢氨苄。虽然络合剂的选择性很高, 不会跟反应底物发生络合反应, 但对酶的活性有较大影响, 增加了反应成本。朱建航等^[5]采用双水相体系, 根据反应底物、产物和催化剂在两相间分配行为的差异, 使产物与底物和催化剂分开, 取得了较好的效果, 但此方法存在反应重现性差, 形成双水相体系的高聚物难以回收, 酶损失严重等问题。Michael 等^[2-3,6]提出在中空纤维膜组件中建立 1 个三相体系, 将头孢氨苄的合成反应与络合反应应用疏水性膜隔开, 此方法解决了络合剂使酶



E 为青霉素 G 酰基转移酶; PGA 为 D-苯甘氨酸酰胺; E-PG 为酶-酰胺复合物; 7-ADCA 为 7-氨基-3-去乙酰氧基头孢烷酸; PG 为 D-苯甘氨酸; Ceph 为头孢氨苄

图 1 酶法合成头孢氨苄反应式

收稿日期: 2013-08-05

作者简介: 陆莹莹 (1987-), 女, 硕士生, luying2011@tju.edu.cn; 高瑞昶 (1965-), 男, 博士, 副教授, 主要从事制药分离和溶媒回收的研究, 通讯联系人, gaoruichang@tju.edu.cn。

失活的问题,但存在载体分子利用率低、底物利用率低的问题。笔者在 Michael 等研究的基础上,改变反萃相组成和有机膜相两侧水相的反应条件,解决了 Michael 实验中存在的问题。

1 实验部分

1.1 实验材料

头孢氨苄购自上海叶源生物有限公司。PGME 购自阿拉丁试剂公司。7-ADCA 由随州佳科医药化工有限公司购得。Isopar L 由上海慧朔化工有限公司购得。Aliquat 336、1-癸醇、2-萘酚、甲醇、碳酸钠、碳酸氢钠、磷酸一氢钠、磷酸二氢钠、氯化钾购自天津光复科技发展有限公司。

1.2 实验原理

1.2.1 支撑液膜的介绍

实验中构建了 1 个三相体系:进料相、有机膜相、反萃相,如图 2 所示。进料相由反应底物和反应产物水溶液构成,有机膜相由含有萃取剂的有机溶剂构成,反萃相是包含反萃剂的水溶液。反萃相水溶液通过搅拌分散在有机相中,用泵打入中空纤维膜的壳程。进料相水溶液通过中空纤维膜管程。由于膜是疏水性的,膜孔被有机溶剂填满,形成稳定的支撑液膜。为了保证液膜的稳定,要持续供应维持液膜的有机溶剂。

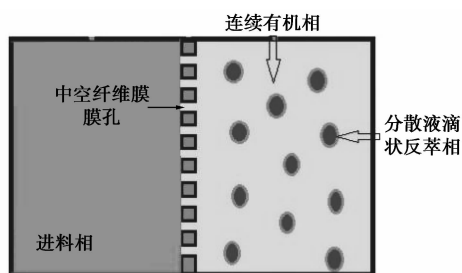


图 2 中空纤维膜中带反萃相的支撑液膜

进料相中的反应产物被有机相中的载体萃取到有机相中形成载体-产物复合物,该复合物再与反萃相中的反萃剂进行离子交换,将反应产物留在反萃相中。然后向反萃相中加入络合剂,将反应产物选择性络合、回收。

实验中,有机相采用 Isopar L 作萃取剂, Aliquat 336 为载体, 1-癸醇为载体助溶剂^[2-3,6]。分散相采用 pH=9.0 的 PGME 溶液。

1.2.2 传质机理的介绍

进料相中底物 7-ADCA 和 PGME 不断消耗生成产物头孢氨苄,头孢氨苄通过载体经过萃取和反

萃过程进入到反萃相中,与络合剂反应生成沉淀。因为反萃相中头孢氨苄浓度一直处于较低水平,反应生成的头孢氨苄由于浓度差的推动会不断向反萃相转移。同时进料侧的底物 PGME 不断消耗,浓度不断降低,反萃相中的 PGME 在浓度差推动下向进料相中转移,补充反应的消耗,如图 3 所示。

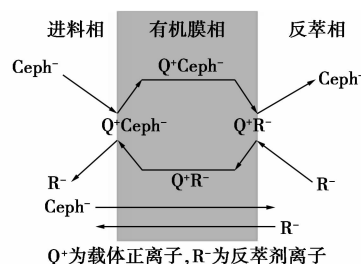


图 3 头孢氨苄运载机理

这种反应过程和萃取过程的耦合过程的主要特点是:反应产物不断移除可以打破分配系数对转化率的限制,最大限度地提高反应转化率;移走产物有效地降低了产物对酶的抑制作用,使得酶的活性的性能得到最大发挥;对产物进行了初步的分离,简化了工艺流程^[7]。

1.3 实验方法

1.3.1 萃取实验

萃取实验在室温下进行。进料相 pH 控制在 9.0 左右。在 150 mL 烧杯中加入 30 mL 进料相和 30 mL 含有载体 Aliquat 336(质量分数为 5%) 和 1-癸醇(质量分数为 2.5%) 的 Isopar L 有机相^[3]。磁力搅拌 3 h, 停止搅拌, 检测进料相各组分浓度变化。

1.3.2 反萃实验

反萃实验在室温下进行。改变反萃液 pH 从 6.0~10.0。在 100 mL 烧杯中加入萃取反应后的有机相 20 mL 和反萃液 20 mL。磁力搅拌 3 h, 停止搅拌, 检测反萃相中各组分浓度变化。

1.3.3 分析方法

采用 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计测定头孢氨苄、7-ADCA 和 PGME 的含量。其最大吸收峰分别在 210、263 nm 和 210 nm 处。由于头孢氨苄和 PGME 的最大吸收峰重叠, 采用紫外可见分光光度法区分不出来, 因此需要重新建立分析方法分析多组分溶液。

对头孢氨苄溶液进行光谱扫描, 结果显示, 头孢氨苄存在 4 个吸收峰, 分别在波长 210、227、261、372 nm 处。而在波长 > 300 nm 时, PGME 和 7-ADCA 都没有吸收, 所以在 372 nm 处检测头孢氨苄吸光度随浓度的变化, 结果如图 4 所示。

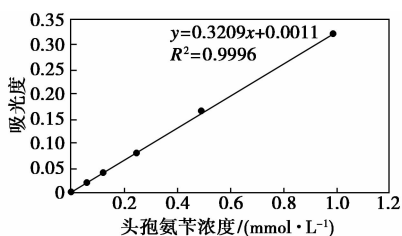


图 4 波长为 372 nm 下头孢氨苄的标准曲线

由图 4 可知,在 372 nm 处,浓度和吸光度呈线性关系,可以在此波长下对头孢氨苄进行定量测定。

对 7-ADCA 和 PGME 进行光谱扫描,结果如图 5 所示。

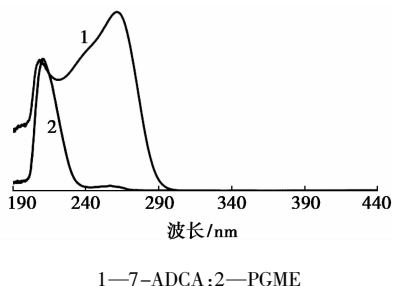


图 5 7-ADCA 和 PGME 的光谱扫描图

由图 5 可知,7-ADCA 也存在 2 个吸收峰,分别在 207 nm 和 263 nm 处。而在 263 nm 处,PGME 的吸收几乎为零,因此对其混合液,可用 263 nm 处吸光度对 7-ADCA 进行定量测定,其标准曲线如图 6 所示。

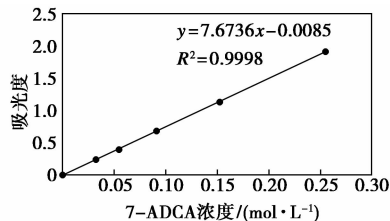


图 6 波长为 263 nm 下 7-ADCA 的标准曲线

因此,对于含头孢氨苄的多组分溶液,在 372 nm 波长下用式(1)计算头孢氨苄的浓度。对于 7-ADCA 和 PGME 的混合液,在 263 nm 波长下用式(2)计算 7-ADCA 的浓度:

$$A = 0.3209C + 0.0011 \quad (1)$$

$$A = 3.8368C - 0.0085 \quad (2)$$

2 结果与讨论

2.1 萃取反应

2.1.1 浓度对头孢氨苄分配系数的影响

分配系数为达到平衡时在有机相和进料相间的

分配比:

$$K_f = C_{QCeph} / C_f \quad (3)$$

其中, C_{QCeph} 根据头孢氨苄的质量守恒,由公式(4)计算:

$$C_{QCeph} = (V_f / V_o) (c_{f0} - c_f) \quad (4)$$

分别配制浓度为 5、10、20、30、40 mmol/L 的头孢氨苄溶液,然后与等体积含有质量分数为 5% Aliquat 336 和质量分数为 2.5% 1-癸醇的有机相混合,磁力搅拌 3 h,静置后测其分配系数,结果如图 7 所示。

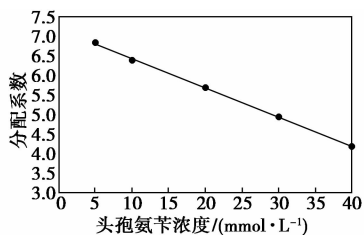


图 7 头孢氨苄分配系数与浓度的关系

由图 7 可知,头孢氨苄浓度越低,分配系数越大,对萃取反应越有利。因此不断移除进料相中生成的头孢氨苄可使萃取反应更彻底。然而进料相中头孢氨苄浓度越低,与反萃相的浓度差越小,传质推动力就越小,传质越慢。因此综合考虑两因素,选择浓度为 20 mmol/L 的头孢氨苄溶液进行实验。

2.1.2 pH 对头孢氨苄分配系数的影响

配制头孢氨苄浓度为 20 mmol/L 的进料相,调节进料相 pH 分别为 6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 (pH = 6.0、7.0、8.0 的进料相,用 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液配制^[6], pH = 9.0、10.0 的进料相,用 0.2 mol/L 的碳酸盐缓冲液配制)。取体积相同的进料相和含有质量分数为 5% Aliquat 336 和质量分数为 2.5% 1-癸醇的有机相混合,磁力搅拌 3 h,静置后测其分配系数,结果如图 8 所示。

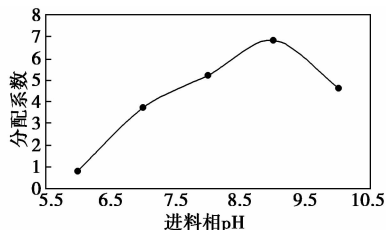


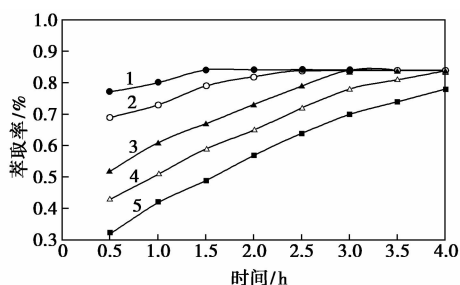
图 8 头孢氨苄分配系数与进料相 pH 的关系

头孢氨苄为两性分子,其 pK_a 值为 2.56 和 6.88,因此其离子状态取决于溶液的 pH。当 $pH > 6.88$ 时,头孢氨苄为阴离子状态,可与载体结合进入有机相。由图 8 可知, pH 越大,分配系数越大。

原因是随着 pH 的增大,溶液中阴离子所占比例越大,与载体结合能力越强,分配系数也就越大。而当 $\text{pH} > 10$ 时,分配系数有所降低,其原因是头孢氨苄发生了水解。为了保证头孢氨苄有较大的分配系数,选择进料液的 pH 为 9.0。

2.1.3 进料相与有机相体积比对萃取效果的影响。

进料相为 20 mmol/L 的头孢氨苄溶液, pH 为 9.0; 有机相为质量分数为 5% Aliquat 336 和 2.5% 1-癸醇的 Isopar L 溶剂。实验考察有机相和进料相体积比分别为 3:1、2:1、1:1、1:2、1:3 时的萃取平衡时间和萃取率,结果如图 9 所示。



1—3;2—2;3—1;4—1/2;5—1/3

图9 有机相与进料相的体积比与萃取率和平衡时间的关系

由图 9 可知,当有机相和进料相体积比较大时,萃取平衡时间较短,但与其他体积比相比较,几种体积比平衡后萃取率基本不变。当体积比过小如 1/3 时,萃取率降低。原因是考察时间范围内萃取尚未达到平衡或者有机相中头孢氨苄已达到饱和。另一方面,体积比过大虽然减小了萃取平衡时间,但是由于液膜增厚,增大了传质的距离,从而使得反萃平衡时间增大。为了平衡 2 个因素,本实验中选取体积比为 1:1。

2.1.4 载体选择性实验

分别配制浓度为 20 mmol/L 的头孢氨苄、7-ADCA、PGME 溶液为进料相,调节 pH 为 9.0。与等体积质量分数为 5% Aliquat 336 和质量分数为 2.5% 1-癸醇的有机相混合,磁力搅拌 3 h,测各溶液分配系数。结果见表 1。

表1 头孢氨苄、7-ADCA、PGME 的分配系数

组分	Ceph	7-ADAC	PGME
萃取率/%	0.84	0.72	0.89
分配系数	5.25	2.57	8.09

由表 1 可知,头孢氨苄、7-ADCA、PGME 都可与载体 Aliquat 336 结合。载体对底物和产物的运载

是没有选择性的,且与 PGME 的结合能力要强于头孢氨苄。

在 Micheal 等^[2-3,6]的实验中,由于载体的低选择性,进料相中的反应底物在未来得及发生合成反应前,很大一部分先与载体结合,被转载到反萃相中,造成反应底物因无法回收而大量浪费。而且,载体每运输一单位头孢氨苄到反萃相,必有一单位对反应无利的 Cl^- 被运载到进料相,载体的分子利用率低。因此,建立一个可回收反应底物的反萃相以及提高载体的运载效率是研究的关键问题。

2.2 反萃反应

取与 20 mmol/L 头孢氨苄溶液进行过萃取实验后的有机相,分别与 7-ADCA 溶液、PGME 溶液、KCl 溶液的混合液进行反萃实验 (pH 为 9.0 时用 0.2 mol/L 碳酸盐缓冲液, pH 为 6.5 时用 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液),结果如表 2 所示。

表2 不同反萃相的反萃效果对比

反萃相	7-ADCA (pH=9.0)	PGME (pH=9.0)	KCl (pH=9.0)
反萃率/%	45.55	69.56	80.32
反萃相	7-ADCA (pH=6.5)	PGME (pH=6.5)	KCl (pH=6.5)
反萃率/%	39.43	52.80	87.45

由表 2 可以看出,对于 KCl 的缓冲溶液来说,进料相和反萃相间 pH 差越大, KCl 的反萃能力越强,此结果与文献中报道类似,因为 pH 在 5~6 时,头孢氨苄在有机相和反萃相间的分配系数较小。而对于 PGME 溶液来说, pH = 9.0 时的反萃效果要好于 pH = 6.5 时的反萃效果,原因是在 pH = 9.0 时 PGME 的阴离子比例要远远大于 pH = 6.5 时的 PGME 溶液。而对于 7-ADCA,其反萃效果不如 PGME: 一是因为其与载体结合能力比 PGME 差;二是因为实验中使用的 PGME 为盐酸盐形式,溶液中的氯离子的存在有助于增强反萃效果。为了提高载体的分子利用率和提高底物的利用率,用 pH = 9.0 的 PGME 溶液代替文献中所述的 pH = 6.0 的 KCl 溶液作为反萃相。虽然反萃率降低了 11%,但是底物利用率提高了 43%。

3 结语

(1) 当进料液浓度为 20 mmol/L, pH = 9.0, 有机相与进料相体积比为 1:1 时,头孢氨苄的萃取率最高,为 84%。

(下转第 57 页)

起到暂堵的效果,室内采用开环聚合法,即先将有机酸单体经脱水环化合成丙交酯,然后以 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ - 甲苯溶液为催化剂,用真空泵抽真空至 0.1 MPa,控制油浴温度在 130℃ 左右,开环聚合得到聚酯纤维类固体增强剂。

为了提高暂堵材料的暂堵效果,在纤维状聚酯纤维类固体增强剂中加入颗粒状淀粉接枝共聚物、胶凝状共聚物,复配形成最终的多组分、多形态的聚酯纤维类暂堵体系。固体结构增强剂不能像聚合物那样很好的在横、纵方向上膨胀伸长,从而在一定程度上对体系的膨胀有一定的收缩作用,固体增强剂的用量越多,浓度越大,其对暂堵材料膨胀的收缩作用也就越强,相应的暂堵材料的强度也得到增强^[1,7-9]。

1.3 增强剂的性能

1.3.1 玻璃化转变温度

差示扫描量热法(DSC)可测定多种热力学和动力学参数,如玻璃化转变温度、比热容、反应热、反应速率等^[10]。笔者利用 DSC 确定暂堵材料的玻璃化转变温度,以此为现场施工温度提供参考。

1.3.2 微观结构表征

为了直观地了解暂堵材料以及聚酯纤维类固体增强剂在酸压液中的存在及其分布形态,进行了混合性微观结构和聚酯纤维在溶液中的分布扫描电镜(SEM)实验。

1.3.3 酸溶性

为防止暂堵材料对地层的伤害,要求暂堵材料具有很好的酸溶性。准确称取于 $(105 \pm 3)^\circ\text{C}$ 烘干 2 h 的样品(精确至 0.000 1 g),置于 200 mL 高型烧杯中,加水湿润,加 2 滴甲基橙指示剂,边摇动边缓慢加入 1:1 盐酸溶液至指示剂由黄变红,后再过量

加入 5 mL,加热至沸,趁热用已在 $(90 \pm 3)^\circ\text{C}$ 下恒重的中速定量滤纸过滤,用蒸馏水洗涤沉淀至滤液中无氯离子(用 0.1% 的硝酸银溶液检测),在 $(90 \pm 3)^\circ\text{C}$ 下烘干滤纸及不溶物 2 h,并于干燥器中冷却 30 min 后称重,按下式计算酸溶率:

$$\text{酸溶率} = \{ [m - (m_2 - m_1)] / m \} \times 100\%$$

式中: m_1 为滤纸质量, g; m_2 为滤纸及不溶物质量, g; m 为样品质量, g。

1.3.4 暂堵及伤害

在室内进行注入性暂堵岩心流动实验,其实验步骤如下:①岩心抽真空,饱和模拟地层水;②正向测岩心水相渗透率 K_1 ;③沿岩心轴向将岩心劈开一条人工裂缝,在裂缝面铺一层石英砂,模拟压裂裂缝并测定裂缝渗透率 K_2 ;④将合成的暂堵材料正向驱入岩心中,在 100℃ 下放置 12 h,正向驱替测岩心突破压力梯度及水相渗透率 K_3 ,求出暂堵率 $Z = [(K_2 - K_3) / K_2] \times 100\%$ 。

2 结果与讨论

2.1 材料结构表征

对所得产品进行红外光谱分析并确定其结构,如图 1 所示。

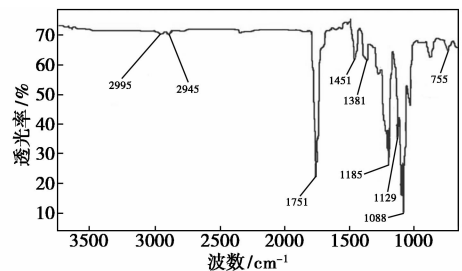


图 1 聚酯纤维红外光谱

12022 - 12030.

(上接第 55 页)

(2)用 pH = 9.0 的 PGME 溶液作为反萃相,反萃率为 69.56%。用其作为反萃相消除了进料相和反萃相的 pH 梯度,简化了操作;提高了载体的分子利用率;底物利用率提高了 43%。

(3)头孢氨苄的收率等于萃取率与反萃率的乘积,最终收率为 58.43%。

参考文献

- [1] 方长明,陈舒明,刘爱红. 头孢氨苄的酶法制备工艺研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2002,33(1):38-41.
- [2] Micheal E Vilt, Winston Ho W S. Selective separation of cephalaxin from multiple component mixture[J]. Ind Eng Chem Res,2010,49:

- [3] Micheal E Vilt, Winston Ho W S. In situ removal of cephalaxin by supported liquid membrane with strip dispersion [J]. Journal of Membrane Science,2011,367:71-77.
- [4] Schroeën C G P H, Nierstrasz V A, Bosma R, et al. In situ product removal during enzymatic cephalaxin synthesis by complexation [J]. Enzyme and Microbial Technology,2002,31:264-273.
- [5] 朱建航,魏东芝,曹学君. 酶法合成头孢氨苄的反应-双水相萃取耦合过程[J]. 化工学报,2003,54(1):95-99.
- [6] Micheal E Vilt, Winston Ho W S. Supported liquid membranes with strip dispersion for the recovery of cephalaxin [J]. Journal of Membrane Science,2009,342:80-87.
- [7] 戴猷元,秦炜,张瑾. 耦合技术与萃取过程强化[M]. 北京:化学工业出版社,2009:12. ■