

# 抗菌素替考拉宁模拟移动床色谱分离的中试研究\*

林炳昌, 宋 峰, 蓝绍鹏, 肖国勇, 高丽娟, 张玄波

(鞍山科技大学分离技术中心, 辽宁 鞍山 114044)

**摘 要:** 从单柱色谱理论出发, 结合实验给出了替考拉宁用模拟移动床色谱进行中试分离的工艺条件, 并对所得结果进行了分析。

**关键词:** 模拟移动床色谱; 替考拉宁; 中试

**中图分类号:** TQ 028.7      **文献标识码:** A

**文章编号:** 0367-6358(2003) 10-0524-05

## The Pilot Test of Separation of Antibiotic Teicoplanin with SMB

LIN Bing-chang, SONG Feng, LAN Shao-peng,

XIAO Guo-yong, GAO Li-juan, ZHANG Xuan-bo

(The Center of Separation Technology, Anshan University of Science and Technology, Liaoning Anshan 114044, China)

**Abstract:** The optimized separation conditions of antibiotic Teicoplanin with simulated moving bed(SMB) in pilot test are given and discussed based on batch chromatography theory and results of batch and SMB experiments.

**Key words:** simulated moving bed chromatography(SMBC); Teicoplanin; pilot

模拟移动床色谱(SMBC)<sup>[1]</sup>在药物领域的应用已有不少报道<sup>[2-4]</sup>。用SMB分离替考拉宁<sup>[5,6]</sup>是一项直接关系该产品质耗比能否提高的实际课题。该课题的实验室研究已在自行研制的小型四柱、七阀、手动的SMB( $\varnothing=1\text{ cm}$ )中进行, 该项工作已经报道<sup>[7]</sup>。为了实现工业生产(年产几十到几百千克), 我们相继研制了中试型与工业型的SMB各一套。其工作单元分别为内径 $\varnothing=5\text{ cm}$ ,  $\varnothing=10\text{ cm}$ 的制备柱, 其结构均为八柱, 四十阀, 由微机及PLC控制。

工业规模SMB的工艺路线尤其是操作参数的确定较为复杂, 从小型到中试型主要变化是(1)由于进样量的增大, 非线性效应增大; (2)由于柱径的增大, 柱效下降, 非理想效应增大; (3)由于实现了自动控制, 系统的稳定性问题更为突出。因此对中试SMB分离, 其操作条件的严格选择更为重要。

非线性条件下, SMB参数的确定, 不少作者采

用Morbidelli三角形方法<sup>[8]</sup>, 它对于理想双组分情形效果较好。但这种方法要求测定Langmuir系数, 这对多组分系统来说很不实际。因此对多组分非线性系统, 一般认为应采用反复实验的方法<sup>[9,10]</sup>。实际上, 再加上非理想因素的影响, 问题更加复杂, 因此采用反复实验是比较现实的方法。由于使用的是三带SMB, 考虑到三带SMB的运行特征, 本文直接从单柱色谱理论出发, 结合实验确定SMB参数的大致范围, 然后再通过反复实验进行优化。

### 1 分离条件的理论分析

自行设计研制了三带模拟移动床, 它的工作单元为 $\varnothing=5\text{ cm}$ 的制备柱。模拟移动床的运行特征如图1。带为精馏带, 带为吸附带, 谱带前沿的切换分离发生在带, 谱带后沿的切换分离发生在带。

收稿日期: 2003-05-15; 修回日期: 2003-06-25

基金项目: 辽宁省教委基金资助项目(20092127)

作者简介: 林炳昌(1939-), 男, 教授, 主要从事非线性色谱及模拟移动床的理论和应用研究。

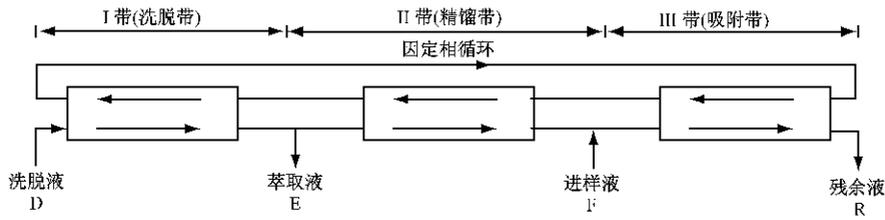


图 1 三带 SMB 运行特征示意图

模拟移动床中每一个带的色谱方程, 在略去扩散及相间传质后, 可近似为:

$$\frac{\partial C_{\alpha i}}{\partial t} + F \frac{\partial q_i}{\partial t} + u \alpha \frac{\partial C_{\alpha i}}{\partial x} = 0$$

$$q_i = f_i(C_1, C_2, \dots) = \frac{G_i C_i}{1 + \sum_{j=1}^n b_j C_j} \quad (1)$$

式中:  $C, q$  分别为组分在流动相与固定相的浓度;  $t, x$  分别为时间、空间坐标;  $u$  为流动相速度;  $G, b$  为吸附系数;  $F$  为相比。  $\alpha = 1, 2, \dots$  为不同谱带;  $i, j = 1, 2, \dots, n$  为不同组分<sup>[11,12]</sup>。

在线性条件下:  $q = GC$ , 由一般的色谱理论可以得到保留时间

$$t_R = \frac{L}{u} (1 + FG) = \frac{L}{u} (1 + k) \quad (2)$$

两组份在 带中分离的条件为

$$t_{R1} < t_s < t_{R2} \quad (3)$$

$t_{R1}, t_{R2}$  是待分离的组分 1, 2 的保留时间, 这里假设组分 1 为弱吸附组分,  $t_s$  是 SMB 的切换时间。

在线性条件下, 由方程(2)和方程(3), 得:

$$\frac{L}{u} (1 + k_1) < \frac{L}{u_s} < \frac{L}{u} (1 + k_2) \quad (4)$$

同样在精馏带(带)也有类似的关系:

$$\frac{L}{u} (1 + k_1) < \frac{L}{u_s} < \frac{L}{u} (1 + k_2) \quad (4)$$

其中  $L$  为柱长,  $u, u_s$  为带和带中的流速,  $u_s = L/t_s$  为固定相的逆流速度。实际上, 如果引入  $m\alpha =$

$\frac{Q_\alpha - Q_s \epsilon}{Q_s (1 - \epsilon)}$ , 其中  $Q_\alpha = \epsilon S u^\alpha, \alpha = 1, 2, \dots, Q_s = u_s S$ , 方程

(4)和方程(4)即为线性条件下 Morbidelli 三角形的边界关系<sup>[8,9]</sup>

$$G_1 < m\alpha < G_2 \quad \alpha = 1, 2, \dots$$

在非线性条件下, 各组分的保留时间与浓度相关, 吸附带(带)中的谱带前沿由于浓度较高, 谱带速度加快,  $k_1$  的实际值将降低。在循环过程中, 精馏带(带)的初始条件不是空柱, 加之在快组分的后沿尾端处, 慢组分浓度不为零, 根据非线性理论,  $k_2$  的实际值也将变小<sup>[11]</sup>。

由于分离的是  $T_2$  群和  $T_3$  群(如图 2)。两组分

群的相邻组分是  $T_{2-1}$  与  $T_{3-2}$ , 要在中试条件下确定上述的原料中的  $T_{2-1}$  与  $T_{3-2}$  的吸附特性是十分困难的。实际上, 由于模拟移动床系统中的操作单元是柱效相对比较低的制备柱, 在分离多组分样品时, 就一个制备柱来说各组分往往不能完全分开, 如图 3-1 是制备柱的在线检测谱图, 在谱图中只有两个色谱峰, 根据图 2-2 的结果, 前面的峰为  $T_3$  群, 后面的峰为  $T_2$  群, 根据这两个色谱峰, 可分别确定实际条件下的  $T_3$  群和  $T_2$  群平均的容量因子  $k_{1,P}, k_{2,P}$ , 从而定出分离区域, 然后再通过实验, 不断地校正具体的  $u, u_s$  和  $t_s$  的数值, 以取得最好的分离效果。

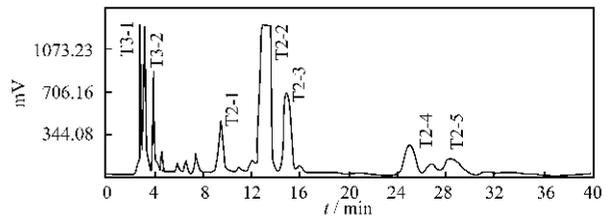


图 2 替考拉宁原料的 HPLC 检测谱图

## 2 基本数据的实验测定——单柱实验

### 2.1 仪器与试剂

HPLC 检测系统(岛津 SPD-10A VP 紫外检测器, LC-10A TVP 恒流泵, 4.6 × 250 mm ODS 色谱柱), 模拟移动床色谱分离系统(自行设计研制), 薄膜旋转蒸发系统(ZFQ-972 型薄膜旋转蒸发器)。

### 2.2 实验

#### 2.2.1 原料前处理

称量效价为 700 的替考拉宁原料 360 g, 溶在 6 L 丙酮与水( $v/v = 1/1$ )的混合溶液中, 搅拌至全溶; 用 NaOH 溶液调 pH 值至 7.2 ~ 7.4, 搅拌出现沉淀; 静止 12 h; 减压抽滤, 抽滤液作为模拟移动床色谱分离的原料。

#### 2.2.2 单柱实验

##### 2.2.2.1 洗脱法

柱: 5 × 10 cm 不锈钢柱, 内填(干法自填)粒径 30 ~ 40 μm 孔径 6 nm  $C_{18}$  无定形填料。流动相: 甲醇:水( $v/v = 65/35$ )。操作: 先用高压稳流泵进样, 然后用流动相冲洗, 冲洗流速为 30 mL/min。

由图 3 可得制备柱的死时间  $t_0 = 3.37 \text{ min}$  及  $T_3$  群与  $T_2$  群在非线性非理想条件下的容量因子, 即实际的容量因子;  $T_2$  群在单柱系统内实际的平均保留时间  $t_2 = 9.36 \text{ min}$ ,  $T_3$  群实际的平均保留时间  $t_1 = 6.98 \text{ min}$ ,  $T_3$  群实际的平均容量因子为  $k_{1,P} = 1.07$ ,  $T_2$  群实际的平均容量因子为  $k_{2,P} = 1.78$ 。

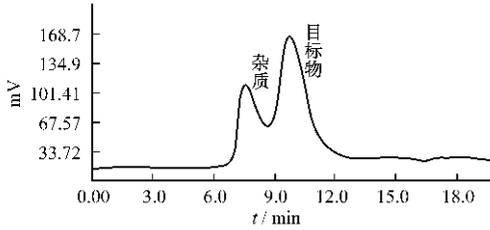


图 3 制备柱单柱实验

### 2.2.2.2 迎头法

原料液: 与 2.2.1 相同。柱和流动相与洗脱法中相同。操作: 用流动相冲洗平稳后, 同时启动原料液泵和流动相泵(流速为  $30 \text{ mL/min}$ ), 每隔一分钟收集一个馏份, 分别检测。当开始出现目标物时关闭原料泵, 继续用流动相洗脱直至所有的组份被洗净。在系统其它条件不变的情况下, 改变进样流速, 实验结果如表 1:

表 1 迎头法实验

进样流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	出现产品的时间/ $\text{min}$	合格馏份段 <sup>1)</sup>
3	10	16-26
4	9	14-24
5	8	14-21
6	6	13-17

1) 合格馏分段指  $T_2$  群含量大于 80%,  $T_3$  群含量小于 15%, 其它杂质含量小于 5%

表 1 说明, 随着进样流速增加, 流出产品的时间明显缩短, 这表明非线性效应较强。另外随着进样流速增加, 使得满足纯度要求的馏分段越来越少, 这表明可分离区间的缩小也是显著的。从提高产量和方便操作两个方面考虑, 选择进样流速为  $5 \text{ mL/min}$ 。

### 3 模拟移动床参数的实验优化

根据自行研制的 SMB 的设备条件, 选择  $u = 30 \text{ mL/min}$ , 因此  $u = 35 \text{ mL/min}$ , 根据单柱实验 1 测得的  $k_{1,P}, k_{2,P}$  并代替理论公式(4)与(4)中的  $k_1, k_2$ , 可得到在实际条件下切换时间  $t_s$  的范围:

$$6.98 < t_s < 8.07 \quad (5)$$

在 SMB 运行达到平衡前, 浓度要不断积累, 切换时间还应当减小。

综上所述, 初步确定 SMB 分离参数范围如下:

流动相: 甲醇-水 =  $65/35(v/v)$ , 进样浓度:  $c_F = 50$

$\text{mg/mL}$ (前处理产品)

进样液流速:  $u_F = 3 \sim 7 \text{ mL/min}$ , 洗脱液流速:  $u_D = 45 \sim 70 \text{ mL/min}$ ,

萃取液(产品出口)流速:  $u_E = 15 \sim 45 \text{ mL/min}$ , 残余液流速:  $u_R = 32 \sim 33 \text{ mL/min}$ ,

切换时间:  $t_s = 6 \sim 8 \text{ min}$ , 色谱柱温度:  $20 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

为了进一步优化 SMB 的参数, 选择了不同的参数组, 做了一系列实验, 结果如表 2。

表 2 模拟移动床分离参数

实验号	进液流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	洗液流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	萃取液流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	切换时间/s	柱连 接方 式	检测结果			
						$T_2$		杂质	
						萃取液/%	残余液/%	$T_2$	杂质
1	2	70	40	380	1-3-4	> 80	< 5	< 5	> 90
2	2	70	38	415	1-4-3	> 80	< 5	< 5	> 90
3	3	70	39	415	1-4-3	> 80	< 5	< 5	> 90
4	5	70	41	420	1-4-3	> 80	< 5	< 5	> 90
5	5	50	21	420	1-4-3	> 80	< 5	< 5	> 90
6	5	45	16	420	1-4-3	> 80	< 5	> 40	< 50
7	6	70	42	415	1-4-3	80	5	$\geq 5$	$\leq 90$
8	7	70	43	415	1-4-3	< 80	> 5	> 5	< 90
9	6	70	42	420	1-4-3	> 90	< 5	< 5	> 90
10	6	70	42	425	1-4-3	> 95	< 5	> 30	< 60

由表 2 实验 1#, 2# 结果可知, 柱数分配方式 1-4-3 和 1-3-4 分离结果均能满足要求, 为了得到更高的纯度和收率, 选择柱分配方式为 1-4-3; 从实验 2#, 3#, 4#, 7#, 8# 可见, 进样流速小于  $6 \text{ mL/min}$  能满足分离要求, 为了保证质量与收率选择进样流速  $5 \text{ mL/min}$ ; 从实验 7#, 9#, 10# 可见, 切换时间大于  $420 \text{ s}$  产品仍能合格, 从最大收率的角度来看, 选择  $420 \text{ s}$ 。从 4#, 5#, 6# 可见, 从上述参数得到的产品均合格, 但收率较低, 这是由于冲洗流速过小引起的, 所以选择洗脱流速为  $50 \text{ mL/min}$ ; 进样液流速为  $5 \text{ mL/min}$ , 萃取液(产品出口)流速为  $21 \text{ mL/min}$ , 切换时间为  $7 \text{ min}$ 。

根据选定的参数分别对生产的两批产品: # 1, # 2(见表 3)进行检测, 其产品和杂质色谱图如图 4, 图 5。

### 4 产品处理与检测

#### 4.1 产品处理

##### 4.1.1 浓缩

SMB 萃取液用薄膜旋转蒸发器于  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  下减压浓缩。待浓度为  $20 \sim 25 \text{ g/L}$  时取出, 用于重结晶。

##### 4.1.2 重结晶

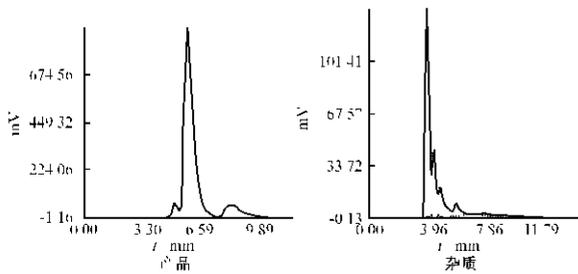


图 4 # 1 产品和杂质的谱图

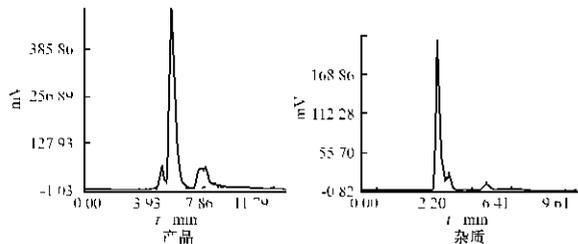


图 5 # 2 产品和杂质的谱图

将 4.1.1 所得的浓缩液加入丙酮, 体积比 1 10, 进行重结晶。静置 12 h; 过滤后置于真空干燥箱里进行干燥至恒重, 得粉末状产品。

4.1.3 溶液回收

母液用蒸馏处理后再利用。

4.2 产品检测

纯度: HPLC 法同参考文献[1], 结果见表 3。

效价: 效价由生产厂方测定并反馈信息(见表 3)。

表 3 产品纯度及效价

SMB 产品	纯度/ %	效价/ $u \cdot mg^{-1}$
# 1	92.9	92.2
# 2	87.1	863

替考拉宁合格产品国际标准是  $T_2 \geq 80\%$ ,  $T_3 \leq 15\%$ , 其它杂质  $\leq 5\%$ 。对比可知, 模拟移动床提纯的替考拉宁是合格的产品。

5 放大实验

根据上述的实验方法, 将 SMB 设备进一步放大。

5.1 设备的不同之处

操作单元色谱柱径从  $\varnothing 5\text{ cm}$  放大为  $\varnothing 10\text{ cm}$ ; 色谱柱的装填方法由干法改成轴向压缩法; 泵由  $80\text{ mL/min}$  的兴达泵改成  $360\text{ mL/min}$  的 Mil-tonroy 泵。

5.2 新参数的确定, 除了根据内径的变化以外还考虑了柱效的变化。

5.2.1 单柱分离情况比较( $\varnothing 10\text{ cm}$  与  $\varnothing 5\text{ cm}$ )

操作同 2.2.2.2, 只是将流速改为  $120\text{ mL/min}$ , 实验结果见表 4。

表 4 单柱分离结果

进样流速 / $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	出现产品的时间 / $\text{min}$	合格馏份段 / $\text{min}$
8	8	12-25
12	7	11-34
16	6	10-20
20	4	9-18

表 4 说明, 随着进样流速增加, 流出产品的时间明显缩短, 这表明非线性效应较强。另外随着进样流速增加, 使得满足纯度要求的馏分段越来越少, 这表明可分离区间的缩小也是显著的。从提高产量和方便操作两个方面考虑, 选择进样流速为  $12\text{ mL/min}$ 。由于色谱柱的内径放大了 4 倍, 洗脱流速也按比例放大 4 倍, 所以制备柱内流动相的线流速与  $\varnothing = 5\text{ cm}$  的制备柱的工作条件下的线流速相比并没有发生变化。因此, 根据色谱理论柱效变化不大。当进样流速为  $12\text{ mL/min}$  时, 我们根据  $\varnothing = 5\text{ cm}$  的制备柱时的情况: 单柱分离时出现产品的时间与最后 SMBC 系统的切换时间相近, 因此我们选择  $420\text{ s}$  为  $\varnothing 10\text{ cm}$  SMBC 系统的切换时间。

5.2.2 模拟移动床分离参数选择及比较

操作同 3, 结果见表 5。

表 5 模拟移动床分离参数( $\varnothing 10\text{ cm}$ )

实验号	进液流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	洗液流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	萃取液流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	切换时间/ $\text{s}$	柱连接方 式	检测结果			
						萃取液/ $T_2$ / %	杂质	残余液/ $T_2$ / %	杂质
1	12	200	80	420	1-4-3	> 80	< 5	< 5	> 90
2	12	200	80	425	1-4-3	> 80	< 5	> 5	> 90
3	12	200	80	415	1-4-3	> 80	< 5	< 5	> 90
4	12	200	80	410	1-4-3	< 80	> 5	< 5	> 90

根据上述实验可以看到, 在 2#, 1#, 3#, 4# 实验中随着切换时间的减少萃取液中  $T_2$  含量越少, 杂质增多和残余液中  $T_2$  含量增多, 杂质减少, 当切换时间为  $420\text{ s}$  和  $415\text{ s}$  时, 产品都能满足要求, 考虑到当制备柱体积过载时分离效果下降, 我们选择切换时间为  $415\text{ s}$ 。

根据上面实验确定 SMBC( $\varnothing 10\text{ cm}$ ) 运行参数为: 选择浓度同前,  $u_F = 12\text{ mL/min}$ ,  $u_D = 200\text{ mL/min}$ ,  $u_E = 132\text{ mL/min}$ ,  $u_R = 80\text{ mL/min}$ ,  $t_s = 415\text{ s}$ 。按照以上参数进行模拟移动床生产, 并对得到的产品进行检测, 产品纯度为  $87.1\%$ 。

6 结论

6.1 对三带 SMB 来说, 从单柱色谱理论出

发,结合实验先确定出参数的范围,基本上能符合优化结果。这对多组分样品的 SMB 中试分离是一个较为实际的方法。

**6.2 进样流速决定产率,但进样流速对分离效果影响很大,在本文的条件下,当进样流速大于 6 mL/min 时,分离效果已经很差,进样流速的变动取决于系统的其它条件,如增加各带的流速就要提高泵的耐压能力,这对中试系统的设计是个重要问题。**

**6.3 从 SMB 工作单元为  $\varphi 5\text{ cm}$  的实验数据出发,通过实验实现进一步放大到  $\varphi 10\text{ cm}$  也是可行的。**

致谢:感谢浙江药业新昌制药厂的支持及金一平、劳学刚等同志的帮助。

**参考文献:**

[ 1 ] Barker PE, Ganetsos G. Separation & Purification Method[J], 1988, 17( 1 ): 1-65.  
 [ 2 ] Gottschlich N, Chromatogr. J. A[J], 719, 1996, 267-274.

[ 3 ] Francotte E, Richert P, Mazgotti M, et al. J Chromatogr. A[J], 1998: 769.  
 [ 4 ] 林炳昌. 辽宁医药[J], 2000: 15.  
 [ 5 ] 江一帆. 世界最新药物手册[M]. 北京: 中国医药出版社, 1994.  
 [ 6 ] 杨 红. 国外医药抗生素分册[J], 1998, 4( 19 ): 28-281.  
 [ 7 ] 张立华, 肖国勇, 高丽娟, 等. 模拟移动床色谱分离替考拉宁条件研究[J]. 化学世界, 2002, 43( 3 ): 130-132.  
 [ 8 ] Storti G, Mazzotti M, Morbidelli M, et al. AIChE J [J], 1993, 39: 471.  
 [ 9 ] Mazzotti M, Storti G, Morbidelli M. AIChE J. [J], 1994, 40: 1825.  
 [ 10 ] Mazzotti M, Storti G, Morbidelli M. AIChE J. [J], 1996, 42: 2784.  
 [ 11 ] 林炳昌. 非线性色谱数学模型理论基础[M]. 北京: 科学出版社, 1994.  
 [ 12 ] 叶振华. 吸附分离过程基础[M]. 北京: 化学工业出版社.

(上接第 531 页)

纯净水、自来水、人造尿液环境水样 pH 值测定。

虽然该电极的各项指标都良好,适用于以上各种试液中的测试,但是由于具有内酰亚胺式和叔胺基结构物质的严重干扰,所以不能应用于含有尿酸、尿囊素、嘌呤类物质、十六烷基吡啶及其衍生物的试液中 pH 值的测定。

表 4 不同样品测定结果

样品	测得 pH 值	
	PVC 膜 pH 电极	复合玻璃电极
可口可乐	2.90	2.96
雪碧	3.76	3.88
纯净水	6.23	6.35
自来水 1	5.25	5.40
自来水 2	5.52	5.78
人造尿液 1	5.57	5.62
人造尿液 2	6.32	6.40

**参考文献:**

[ 1 ] 欧阳健明, 姚秀琼, 苏泽轩, 等. 草酸钙结石的体外模拟[J]. 中国科学, B 辑, 2003, 33(1): 14-19.  
 [ 2 ] Ouyang J M, Deng S P. Controlled and uncontrolled crystallization of calcium oxalate monohydrate in the presence of citric acid[J]. Dalton Transactions, 2003, (14): 2846-2851.

electrodes based on 18-crown-6-phosphotungstic acid precipitates[J]. Anal Chim Acta, 1996, 324: 125-134.  
 [ 4 ] Cho D H, Chung K C, Park M Y. Hydrogen ion-selective membrane electrodes based on alkylidibenzylamines as neutral carriers[J]. Talanta, 1998, 47: 815-821.  
 [ 5 ] Han W S, Park M Y, Chung K C, et al. Potentiometric sensor for hydrogen ion based on N, N'-dialkylbenzylketone neutral carrier in a poly(vinyl chloride) membrane with polyaniline solid contact[J]. Talanta, 2001, 54: 153-159.  
 [ 6 ] 宋又群, 袁 若, 柴雅琴, 等. 一种新的适合低 pH 范围的中性载体 PVC 膜电极的研究[J]. 分析科学学报, 1999, 15( 3 ): 182-186.  
 [ 7 ] 白铁男, 马腾骧, 王 瑾. 人工尿液中 GAGs 对草酸钙结晶凝集的影响[J]. 中华泌尿外科杂志, 1994, 15( 2 ): 126-128.  
 [ 8 ] Doyle B, Moody G J, Thomas J D. Radiotracer studies on ion-selective electrode membranes containing metal complexes of a nonylphenoxy poly(ethyleneoxy) ethanol in poly(vinyl chloride) matrixes[J]. Talanta, 1982, 29( 4 ): 257-262.  
 [ 9 ] Jacek L, Irmina C C, Bogdan M. Preparation and applications of the products of reaction of uric acid with formaldehyde[J]. React Functional Poly. 2002, 53: 113-124.