

УДК 543

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ В АНАЛИЗЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Мокшина Н.Я., Нифталиев С.И., Пахомова О.А.

*Государственный университет,
Государственная технологическая академия,
г. Воронеж, Россия*

Изучена экстракция тирозина и триптофана гидрофильными растворителями (бутиловый спирт, ацетон, этилацета) в присутствии высаливателя, установлены некоторые закономерности процесса. Предложены эффективные системы для извлечения аминокислот из водных растворов.

Тирозин и триптофан – протеиногенные медиаторы головного и спинного мозга, предшественники нейромедиаторов-аминов и нейропептидов. Нарушение содержания этих аминокислот и их производных в организме человека является одной из причин возникновения различных патологических процессов, проявляющихся в дисфункциях нервной системы [1]. Таким образом, важно не количество, а качество потребляемых с пищей белков. В настоящее время можно получать незаменимые и заменимые аминокислоты в виде биологически активных пищевых добавок, которые могут содержать одну или несколько аминокислот. В связи с развитием фармацевтической промышленности необходим количественный анализ синтетических терапевтических средств, белковых смесей, содержащих одну или несколько аминокислот. Экстракционное извлечение и кондуктометрический анализ экстракта позволяют контролировать содержание биологически активных веществ в фармацевтических препаратах на каждой стадии их производства.

Вследствие малой растворимости в воде выделение тирозина и триптофана из водных сред затруднено. В классическом варианте жидкостной экстракции одной из фаз системы является водный раствор, другой – органический растворитель, практически нерастворимый в воде. В качестве экстрагентов для извлечения органических веществ из водных растворов традиционно применяются гидрофобные

растворители разных классов – спирты, эфиры, кетоны, алифатические и ароматические углеводороды, их нитро- и галогензамещенные. Однако эффективность таких систем мала, коэффициенты распределения, как правило, находятся в интервале 0.03 – 0.17, степень извлечения не превышает 0.30 % – 1.67 % [2]. Для экстракции тирозина и триптофана нами предлагается трехкомпонентная смесь гидрофильных растворителей (бутиловый спирт – ацетон – этилацетат). Она имеет следующие преимущества по сравнению с индивидуальными растворителями: повышенная растворяющая способность по отношению к аминокислотам, возможность раздельного титрования кислот в экстракте, отсутствие побочных реакций, высокая точность определения. Кроме того, в соответствующих концентратах возможно определение аминокислот с применением косвенных физико-химических, например, электрохимических методов. Инструментально-титриметрические определения исключают стадию реэкстракции, позволяют селективно определять гомологи и изомеры, прогнозировать количественные характеристики межфазного распределения тирозина и триптофана.

Методика эксперимента состояла в следующем. Готовили водный раствор (30 мл) смеси тирозина и триптофана с исходными концентрациями 0,1 и 0,01 мг/мл соответственно (в ферментационных растворах поддерживается именно такое соотношение концентраций триптофана и тиро-

зина). К приготовленным растворам добавляли кристаллический сульфат лития до получения раствора с концентрацией соли 20 мас. %. Установлено, что при таком содержании высаливателя достигаются максимальные коэффициенты распределения тирозина и триптофана в системе смесь гидрофильных растворителей – вода. При содержании высаливателя в растворе более 30 мас. % выделяются кристаллы сульфата лития, экстракция невозможна. Присутствие электролита в системе – обязательное условие экстракции из водных сред частично или неограниченно смешивающимися с водой растворителями. Механизм действия соли заключается в изменении ионной силы раствора, что способствует переходу распределяемого вещества из водной фазы в органическую [3].

К водно-солевому раствору добавляли 3 см³ смеси бутиловый спирт – ацетон – этилацетат, экстрагировали на вибросмесителе 5 мин (в течение этого времени достигается межфазное равновесие). После расслаивания системы (1–2 мин) экстракт

отделяли, не захватывая водного слоя, и количественно переносили в ячейку для кондуктометрического титрования. Титрант – 0,01 моль/дм³ раствор КОН в безводном этиловом спирте. Экстракт анализировали методом кондуктометрического титрования, соответствующие измерения проводили в стандартной ячейке с платиновыми электродами.

Коэффициенты распределения аминокислот и степень извлечения рассчитывали по известным формулам.

В водной фазе, содержащей сульфат лития, отсутствует органический растворитель, молярные соотношения соль – вода практически не зависят от природы экстрагента. Это подтверждает, что вода в водной фазе полностью входит в сольватные сферы ионов соли.

Эффективность экстракции трехкомпонентной смесью гидрофильных растворителей бутиловый спирт – ацетон – этилацетат значительно выше по сравнению с экстракцией изученными бинарными смесями (таб. 1).

Таблица 1. Состав смеси гидрофильных растворителей для экстракции тирозина и триптофана из водно-солевого раствора; n = 4; P = 5.

Смесь растворителей, мол. доли			тирозин		триптофан	
бутиловый спирт	ацетон	этилацетат	D	R	D	R
0,5	0,5	–	198	95,2	224	95,7
0,5	–	0,5	259	96,3	181	94,8
0,5	0,2	0,1	830	98,8	657	97,1
0,8	0,1	0,1	750	98,6	880	98,9

Установлено, что триптофан и тирозин сольватируются органическими растворителями как цвиттер-ионы за счет образования межмолекулярных водородных связей, причем сольватация амино- и карбоксигрупп может происходить с протонным переносом и без него [4].

Наибольшие коэффициенты распределения достигаются в системах с относи-

тельно невысоким содержанием этилацетата. Это связано с тем, что при добавлении к активному растворителю (ацетон) этилацетата и изопропилового спирта апротонный растворитель (этилацетат) способствует ослаблению межмолекулярных водородных связей, что усиливает сольватацию аминокислот бутиловым спиртом и этилацетатом, способствует повышению коэффициентов распределения тирозина и

триптофана и достижению практически полного (~ 98%-ного) извлечение аминокислот при однократной экстракции [5].

Однако имеется сложность применения трехкомпонентных смесей гидрофильных растворителей, заключающаяся в выборе оптимального соотношения компонентов системы. Задача, как правило, решается эмпирически на основании обширного эксперимента. Применение математических методов планирования эксперимента значительно сокращает временные и материальные затраты на решение этой задачи.

При установлении оптимального соотношения растворителей в трехкомпо-

нентной смеси реализован симплекс-решетчатый план третьего порядка. За единицу принята сумма мольных объемов гидрофильных экстрагентов: X_1 – бутиловый спирт, X_2 – ацетон, X_3 – этилацетат. При статистической обработке экспериментальных данных получены уравнения регрессии, проверка которых по критерию Фишера показала, что неполные квадратичные модели адекватно описывают экспериментальные результаты и, следовательно, могут быть применены для оптимизации состава трехкомпонентного экстрагента:

- тирозин

$$Y = 136X_1 + 95X_2 + 132X_3 + 198X_1X_2 + 259X_1X_3 + 3156X_2X_3 - 212X_1X_2(X_1 - X_2) + 422X_1X_3(X_1 - X_3) - 195X_2X_3(X_2 - X_3) + 793X_1X_2X_3;$$

- триптофан

$$Y = 96X_1 + 130X_2 + 103X_3 + 224X_1X_2 + 181X_1X_3 + 393X_2X_3 + 169X_1X_2(X_1 - X_2) + 462X_1X_3(X_1 - X_3) + 367X_2X_3(X_2 - X_3) + 821X_1X_2X_3.$$

Таблица 2. Симплекс - решетчатый план третьего порядка для трехкомпонентной смеси растворителей

Номер эксперимента	X_1	X_2	X_3	Y
1	1	0	0	Y_I
2	0	1	0	Y_J
3	0	0	1	Y_K
4	2/3	1/3	0	Y_{IJ}
5	1/3	2/3	0	Y_{JK}
6	0	2/3	1/3	Y_{IK}
7	0	1/3	2/3	Y_{JKK}
8	2/3	0	1/3	Y_{JJK}
9	1/3	0	2/3	Y_{JJK}
10	1/3	1/3	1/3	Y_{IJK}

По полученным уравнениям регрессии построены номограммы – контурные кривые равных коэффициентов распределения тирозина и триптофана. На основании номограмм устанавливали оптимальный состав смеси экстрагентов. Возможно решение обратной задачи – прогнозирование коэффициентов распределения тиро-

зина и триптофана в зависимости от содержания отдельных растворителей в трехкомпонентной смеси экстрагентов. Установлено, что 97 – 98 %-ное извлечение достигается при применении трехкомпонентной смеси гидрофильных растворителей, состоящей из 80 мас.% бутилового

спирта, 15 мас.% ацетона и 5 мас.%, этилацетата.

Полученные данные позволяют рекомендовать трехкомпонентную смесь растворителей на основе бутилового спирта, ацетона и этилацетата как эффективную систему для извлечения тирозина и триптофана из водно-солевых растворов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Garrett R.H., Grisham C.M. Molecular aspects of Cell Biology. – Fort Worth, Philadelphia et al.: Saunders College Publ. – 1995. – 1227-1243.

2. Коренман Я.И. Коэффициенты распределения органических соединений. Справочник. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та. – 1992. – 336 с.

3. Соловкин А. С. Высаливание и количественное описание экстракционных равновесий. – М.: Атомиздат. – 1969. – 124 с.

4. Мокшина Н.Я., Селеменов В.Ф., Матвеева М.В., Крестикова Ю.В. Экстракция тирозина и фенилаланина гидрофильными растворителями // Журн. аналит. химии. – 1994. – Т. 49. № 11. – С. 1193 – 1196.

5. Коренман Я.И., Нифталиев С. И. Экстракция хлорфенолов гидрофильными растворителями // Журн. прикл. химии. – Т. 66. № 6. – С. 1394 – 1397.

Modelling of aromatic amino acids extraction process in pharmaceutical analysis

Mokshina N.Ya., Niftaliev S.I., Pakhomova O.A.

State University,

State Academy of Technology,

Voronezh, Russia

Extraction of tyrosine and tryptophane by hydrophilic solvents (butylic alcohol, acetone, ethylacetate) with the presence of salting-out agent was studied, some regularities of process was determined. Effective systems for extraction of amino acids out of aqueous solutions were proposed.