

УДК 615.332:541.135

И.В. Полякова (асп. каф. ФХОМ), В. М. Коликов, д.т.н., проф.

## ИЗУЧЕНИЕ РАВНОВЕСИЯ, КИНЕТИКИ И ДИНАМИКИ СОРБЦИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО АНТИБИОТИКА ЭРЕМОМИЦИНА НА ПОЛИМЕРНЫХ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ НОСИТЕЛЯХ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ.

Производство антибиотиков является одним из перспективных направлений современной биотехнологии. В настоящее время антибиотики продолжают оставаться важнейшими антибактериальными и противоопухолевыми средствами и находят широкое применение в лечебной практике.

Антибиотик эремомицин оказывает сильное бактерицидное действие на грамположительные микроорганизмы: стафилококки, включая устойчивые к  $\beta$ -лактамам антибиотикам, стрептококки, коринебактерии, кластридин и др. Эремомицин является малотоксичным препаратом. Он в 3.5 раза менее токсичен, чем ванкомицин. При подкожном или внутримышечном введении эремомицина максимальный уровень в крови достигается через 2 часа, абсолютная степень биодоступности составляет в среднем 85 %. Антибиотик хорошо проникает в органы; выводится преимущественно с мочей.

Главным требованием к созданию современного биотехнологического производства является использование экономичных и безопасных для окружающей среды технологий в соответствии с гигиеническими нормативами ISO и достижением уровня чистоты препаратов, регламентируемой последними требованиями ВОЗ и стандартов развитых стран.

Основой производства антибиотика эремомицина является биосинтез с последующей многостадийной экстракционной очисткой и химической модификацией. При этом возникает ряд проблем, связанных как с низким выходом и качеством получаемого целевого вещества, так и с токсичностью побочных продуктов и органических растворителей, используемых в технологическом процессе. В связи с этим основной целью работы является создание экономичной и безопасной для окружающей среды технологии выделения и очистки эремомицина из культуральной жидкости и продуктов химического синтеза до уровня чистоты препаратов, регламентируемой последними требованиями ВОЗ (в том числе Фармакопеи США XXIII). В качестве основы технологии рассматривается высокоселективный одноактный препаративный хроматографический процесс выделения и очистки антибиотика непосредственно из нативного раствора штамма-продуцента. Для определения оптимальных физико-химических условий его проведения необходимо изучение равновесных и кинетико-динамических характеристик сорбции эремомицина на хроматографических носителях различной структурной организации.

По данным элементного анализа, спектральных исследований (УФ, ИК, ПМР), электрофореза и аминокислотного анализа эремомицин сульфат принадлежит к группе полициклических гликополипептидов (далбагептидов) и является новым представителем этой группы антибиотиков.

Эремомицин представляет собой амфотерное соединение, легко растворимое в водных растворах кислот и практически нерастворимое в спиртах и органических растворителях. Его молекулярная масса ( $C_{73}H_{89}N_{10}O_{20}Cl$ ) равна 1540. В структуре эремомицина содержится карбоксильная группа ( $pK_{\alpha} = 3.1$ ), три аминных ( $pK_{\alpha_1} = 6.9; 7.9; 9.0$ ) и три фенольных ( $pK_{\alpha_2} = 9.7; 10.4; 11.35$ ). Характер УФ-спектра эремомицина с

максимумом поглощения при 280 нм, батохромно сдвигающийся на 20 нм с увеличением экстинкции, специфичен для соединений, содержащих в молекуле фенольные гидроксилы.

Были изучены равновесие и кинетика сорбции эремомицина на следующих хроматографических носителях: КБ-4П-2, Сферон С-1000, АВ-17, АРА, Полисорб, на гелевых и гетеросетчатых карбоксильных катионитах, синтезированных в ИВС РАН радикальной полимеризацией метакриловой кислоты (МАК), акриловой (АК) и диметакрилата этиленгликоля (ДМЭГ), а также на сверхсшитых сорбентах Стиросорб (ИНЭОС РАН). В основе получения последних в отличие от традиционной сополимеризации мономеров находится процесс сшивания цепей полистирола определенной молекулярной массы в растворе или в набухшем состоянии бифункциональными сшивающими агентами.

Исследованы кривые потенциметрического титрования сорбентов в координатах Гендерсона – Гассельбаха. Определены полные обменные емкости,  $pK_{\alpha}$  и параметр  $n$ , характеризующий кооперативность процесса ионизации фиксированных ионов. Изучение зависимостей сорбционной емкости эремомицина и коэффициентов распределения между подвижной и неподвижной фазами от рН равновесного раствора показало гидрофобный характер взаимодействия эремомицина с молекулярными сорбентами. Показано, что в случае гетеросетчатых и гелевых карбоксильных сорбентов эти зависимости имеет вид кривой с одним максимумом в области рН 6...7, что отражает взаимное конкурентное влияние ионизации молекул антибиотика и фиксированных ионов в матрице катионита. Показана большая сорбционная емкость гелевых и гетеросетчатых сополимеров МАК, АК, и ДМЭГ и сорбентов Стиросорб по отношению к эремомицину.

Изучение кинетики сорбции эремомицина доказало внутридиффузионный характер лимитирования гетерогенного массообмена. Для карбоксильных катионитов и сорбентов Стиросорб величины эффективных коэффициентов диффузии ( $\bar{D} \sim 10^{-7} \dots 10^{-8} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$ ) и средних времен сорбции ( $t \sim 40 \dots 60$  мин), рассчитанные по уравнению Бойда, позволяют использовать высокие скорости протекания подвижной фазы (400...500 мл  $\text{см}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ). Это очень важно для разработки эффективных препаративных хроматографических процессов выделения лабильных молекул антибиотиков. Для карбоксильных катионитов показано увеличение эффективных коэффициентов диффузии эремомицина в зерна сорбентов при росте содержания более гидрофильного компонента (АК), что, по всей видимости, связано с более разрыхленной структурой “внутренней” воды, находящейся в порах сорбентов.

Обратимая динамическая десорбция эремомицина может быть осуществлена при изменении степени ионизации ионогенных групп хроматографических носителей, а также содержания органического растворителя (изопропанола) в элюирующем растворе. Определен оптимальный состав элюирующего раствора, при котором наблюдается резкая хроматографическая зона антибиотика, при этом наиболее концентрированные фракции эремомицина появляются на выходе хроматографической колонки при значениях рН, предотвращающих кислотный гидролиз антибиотика. На основании проведенных исследований предложена предварительная схема выделения и очистки эремомицина хроматографическим методом.