

Сорбция и десорбция антибиотиков-гликопептидов на окисленном олигографене.

**В.Н. Буравцев¹, Г.С. Катруха², Л.А. Баратова³, А.В. Тимофеева³, А.С. Ботин^{1,4}, А.В. Николаев¹,
А.И. Поletaев^{1,5}**

¹Институт химической физики РАН, г. Москва

²НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, г. Москва

³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ, г. Москва

⁴НИИ Скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, г. Москва

⁵Московский физико-технический институт (государственный университет), г. Долгопрудный

Введение. В настоящей работе проведено изучение сорбционных свойств материала типа ТРГ на примере Окисленного ОлигоГрафена (ООГ) в отношении антибиотиков клинически важной гликопептидной группы, а так же исследование условий десорбции с ООГ антибиотиков этой группы.

Окисленный ОлигоГрафен (ООГ) – вариант ультрадисперсного углеродного сорбента [1], который был разработан на основе, модифицированного кислородосодержащего графита (МКГ) [2]. ООГ является потенциальным сорбентом для выделения антибиотика из культуральной жидкости (КЖ) штамма-продуцента после процесса ферментации. Первоначально были изучены сорбционные характеристики ООГ в отношении антибиотиков-стандартов на примере клинически важной гликопептидной (ристомин-ванкомициновой) группы к которой относятся известные антибиотики ванкомицин, ристомин, тейкопланин А2, эремомицин. Интерес к антибиотикам этой группы неуклонно возрастает, это связано с достаточно высокой их устойчивостью по отношению к полирезистентным грамположительным микроорганизмам таким как: *MethicillinResistant Staphylococcus Aureus* (MRSA), *MethicillinResistant Staphylococcus epidermidis* (MRSE), *Clostridium difficile*, энтерококки, пневмококки и др., поэтому антибиотики-гликопептиды становятся незаменимыми при лечении инфекций вызванных этими микроорганизмами.

Сорбция антибиотиков – гликопептидов на ООГ. Технологической особенностью ООГ как сорбента является необходимость заполнения его ажурной структуры раствором, в котором проводились его испытания.

В работе [3] для изучения сорбции в статических условиях к навескам сорбента (200 мг, 100 мг или 50 мг) добавляли 500 мкл водного раствора антибиотика, концентрацией 0,2; 0,5; 0,8 и 1,0 мг/мл, и полученную суспензию выдерживали 1, 3 или 18 час. при 18-20⁰С. По окончании сорбции раствор антибиотика отделяли от сорбента центрифугированием на микроцентрифуге в течение 5-7 мин. при 5600-8850g. Растворы антибиотиков после сорбции (маточки) дополнительно фильтровали через капроновые 0,2 мкм мембраны, диаметром 8,0мм, на той же микроцентрифуге в течение 5 мин. при 2 тыс. об/мин.

Из полученных данных следует, что антибиотики-гликопептиды обладают способностью сорбироваться на ООГ в выбранных условиях. Причем, количество сорбированного антибиотика увеличивается с увеличением времени сорбции. Это видно по существенному уменьшению зоны подавления роста *B. subtilis* и количества антибиотиков в маточнике после 3-х часов сорбции. Максимальной способностью сорбироваться на ООГ обладает тейкопланин А2, минимально – ристомин А. Эта же зависимость видна и из данных по изменению антимикробной активности (по отношению к тест –организмам MRSA и *B. Subtilis*) и концентрации растворов антибиотиков, взятых в диапазоне концентраций 0,2-1,0 мг/мл, до и после выдерживания с ООГ (200мг) в течение 18 час.

Для эремомицина, ванкомицина и тейкопланина во всех экспериментах жидкая фаза сорбента служила «транзитной областью» - антибиотик иммобилизовался на углеродной матрице и его доля в жидкой фазе сорбента не превышала 23% от всей массы антибиотика аккумулированного на сорбенте. При дальнейшем увеличении концентрации ООГ аккумулирует его преимущественно в жидкой объемной фазе, имеющей границу с раствором в реакторе. Таким образом, в ходе проведенного исследования впервые установлена высокая сорбционная способность нового сорбента ООГ в отношении ряда антибиотиков-гликопептидов.

Десорбция антибиотиков-гликопептидов с ООГ. Для использования ООГ в качестве сорбента для выделения антибиотиков из КЖ недостаточно изучить его сорбционные характеристики [3], важно также исследовать процесс десорбции антибиотиков с ООГ. Поэтому проведено исследование условий десорбции антибиотиков-гликопептидов: ванкомицина, ристомин А, тейкопланина и эремомицина с сорбента ООГ.

Десорбцию антибиотиков с ООГ проводили, добавляя к сорбенту 600 мкл соответствующей элюирующей смеси, полученную суспензию помещали на шейкер на 3-5 мин. при 20⁰С. По окончании десорбции ООГ отделяли от элюирующей смеси (элюата) по методике [3]. Десорбцию антибиотиков проводили в трехкратной повторности.

Установлено, что степень десорбции антибиотиков с ООГ зависит от свойств органического растворителя в составе элюирующей смеси, а так же от структуры анализируемого антибиотика. Показано, что десорбированные с ООГ антибиотики сохраняют свои физико-химические свойства и антибактериальную активность в отношении тест-организмов *V.subtilis* и MRSA. Полученные данные по результатам проведенных исследований по сорбции [3] и десорбции [4] позволяют утверждать, что ООГ может быть использован в практике выделения антибиотиков –полипептидов из растворов.

Выводы. Исследования имеют теоретическую и практическую значимость, полученные результаты могут применяться, как при скрининге новых антибиотиков, так и при выделении и очистке уже известных антибиотиков на производстве. Полученные комплексы ООГ-антибиотик могут стать в перспективе лекарственными средствами нового поколения.

Литература:

1. Буравцев В.Н., Чебышев А.В., Ботин А.С., Николаев А.В., Попова Т.С. Сорбент на основе ультрадисперсного графита для детоксикации и стерилизации жидких или газообразных сред и способ его получения // Патент RU 2327517, МПК В01J 20/20, С01В 31/04, 2007.02.14
2. Головач О.С.; Махонин И.К.; Фесенко А.В.; Щербаков В.А.; Чебышев А.В.; Модифицированный графит и способ его получения // Патент RU 2198137С01В31/04 10.02.03
3. Timofeeva A.V., Buravtsev V.N., Baratova L.A. and Katrukha G.S. et al. Study of the Sorption of Glycopeptide Antibiotics on an Ultradisperse Carbon Sorbent. // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2010. - Vol. 46. - No 9. - pp.1-9.
4. Тимофеева А.В, Буравцев В.Н., Баратова Л.А., Катруха Г.С. Новый ультрадисперсный углеродный сорбент. Исследование условий десорбции некоторых антибиотиков – гликопептидов. // Биотехнология. 2011. №1. С.53-59.