

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКЦИИ ПИОЦИОНИНА ХЛОРОФОРМОМ И ХЛОРИСТЫМ МЕТИЛЕНОМ

Д.Е. Кулкенбаева, И.Ю. Хохлова
Научный руководитель – к.м.н. М.В. Чубик

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, dek18@tpu.ru

Антибиотики считаются одним из главных открытий XX века. Постоянное возникновение резистентных штаммов бактерий приводит к необходимости постоянной разработки новых медицинских препаратов. В следствие этого необходима разработка современных методов поиска антибиотиков нового класса.

Пиоцианин – антибиотик, который продуцируют бактерии вида *Pseudomonas aeruginosa*; обладает бактерицидным действием. Чтобы снизить нагрузку на окружающую среду, мы выбираем менее токсичные и наиболее эффективные растворители. Одним из главных этапов в процессе извлечения пиоцианина является экстракция. Пиоцианин считается экзопродуктом, он выделяется непосредственно в культуральную жидкость. Качество и количество конечного продукта зависит от правильно выбранного растворителя и вспомогательных веществ, также влияет время и условия экстракции.

Целью работы является сравнение экстракции двух растворителей: хлороформа и хлористого метилена.

В работе использовался непатогенный штамм *P. aeruginosa*. Посев культуры осуществляли на скошенном агаре (среда ГРМ №9).

Культивирование проводилось в конической колбе на 250 мл, содержащей 100 мл жидкой питательной среды (ГРМ-бульон с добавлением глицерина), при $t=37^\circ\text{C}$ без доступа солнечного света.

Извлечение пиоцианина экстракцией проводили на 4-е сутки культивирования *P. aeruginosa*. Культуральную жидкость объемом 100 мл дели-

ли на 2 объема (по 50 мл) и экстрагировали хлороформом и хлористым метиленом.

Измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-102, при длине волны фотометрирования 700 нм.

Перевод пиоцианина из жидкой фазы (50 мл) в органическую осуществили с помощью добавления хлороформа в культуральный бульон в соотношении (1 : 1). Декантировали синий слой, затем добавили 0,1 н. раствор HCl (20% от объема синего слоя) и перемешивали в течении нескольких минут. После нейтрализации розового слоя 0,1 н. раствором NaOH снова обрабатывали хлороформом. Затем измеряли оптическую плотность пиоцианина. Далее производили концентрирование на роторном испарителе и сушку вещества. По такой же методике произвели извлечение пиоцианина из культуральной жидкости с хлористым метиленом [1].

На основе данных оптической плотности рассчитали концентрацию пиоцианина, используя закон Бера-Бугера-Ламберта по формуле (1).

$$C = M \cdot \frac{A}{\epsilon \cdot l} \quad (1)$$

где: С – концентрация вещества в растворе, мг/мл; М – молярная концентрация ($M_{\text{PYO}} = 210 \text{ г/моль}$); А – оптическая плотность поглощающего вещества; ϵ – молярный коэффициент поглощения (для пиоцианина $\epsilon = 3400 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-1}$); l – длина оптического пути (толщина кюветы – 1 см) [2].

Оптическая плотность культуральной жидкости до экстракции составляла 0,6330 D, а концентрация пиоцианина в ней была 0,0391 мг/мл.

Таблица 1. Сравнение экстракции двух растворителей

Растворители	хлороформ			хлористый метилен		
	водная фаза	органическая фаза	пиоцианин в HCl после очистки	водная фаза	органическая фаза	пиоцианин в HCl после очистки
Оптическая плотность, D	0,1417	0,4725	0,4433	0,1968	0,4464	0,1628
Концентрация пиоцианина, мг/мл	0,0088	0,0292	0,0274	0,0122	0,0276	0,0101
Выход	0,018 г			0,009 г		

Полученные и расчетные данные при экстракции пиоцианина из культуральной жидкости с использованием в качестве экстрагентов хлороформа и хлористого метилена приведены в таблице 1.

Сравнивая значения, полученные после экстракции растворителями (хлороформ и хлори-

стый метилен), можно сделать вывод, что хлороформ лучше извлекает пиоцианин в сравнении с хлористым метиленом. Но хлористый метилен менее токсичный и более летучий в отличие от используемого в работе хлороформа.

Список литературы

1. Turner J.M. and Messenger A.J., *Occurrence, biochemistry, and physiology of phenazine pigment production // Advances in Microbial Physiology, 1986.*– 27.– 211.
2. Токарева Д.Н., Худеева К.А. // *Высокие технологии в современной науке и технике, 2015.*– С.235.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИАГРЕГАНТА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЭЖХ/МС

Л.Н. Лоскутова¹, К.А. Леонов², Д.А. Вишенкова¹
Научный руководитель – к.х.н., доцент Е.В. Дорожко

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, loskuto4ek@mail.ru

²ООО «Инновационные фармакологические разработки»
634021, Россия, г. Томск, ул. Елизаровых 79/4

Атеротромбоз – широко распространенное, хронически прогрессирующее заболевание, начинающееся с атеросклероза. С клинической точки зрения, данное заболевание рассматривают, как единое патологическое образование, которое поражает различные сосудистые территории. Не менее важно и то, что он является причиной возникновения инфаркта миокарда, ишемического инсульта головного мозга и острого коронарного синдрома [1]. Учитывая системный характер заболевания, лечение статинами, антиагрегантами тромбоцитов или ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) помогают в лечении, независимо от пораженного участка сосудов [2]. Именно поэтому актуально найти, разработать и усовершенствовать эффективные и безопасные медикаментозные методы для лечения и профилактики тромбозов.

В настоящее время терапевтическими целями, предотвращающие развитие атеротромбоза, считаются: 1) лечение сердечно-сосудистых факторов риска и 2) снижение развития тромбообразующей способности. Лечение атеротромботических больных должно включать управление сердечно-сосудистыми факторами риска и антиагрегантное лечение для предотвращения тромботических осложнений. Целью антиагрегантной терапии является предотвращение воз-

никновения острых ишемических исходов путём ингибирования микроэмболизации [2].

Благодаря производному индолинона, компании Ифар (г. Томск) удалось осуществить производство инновационной молекулы антиагреганта, кодовое наименование которого – GRS (рисунок 1).

Субстанция GRS послужила основой для создания лекарственного препарата Сангвел®, капсулы 20 мг. Субстанцию и препарат подвергли доклиническим испытаниям на крысах и кроликах, в том числе фармакокинетическим [3]. В дальнейшем это позволило зарегистрировать их в Минздраве РФ для клинических исследований.

В первой фазе клинических испытаний провели исследование фармакокинетики с эскалацией дозы (20, 40 и 80 мг), а также безопасности и переносимости препарата на здоровых добровольцах. Для количественного определения GRS в плазме крови человека использовали метод ВЭЖХ/МС. Разработали и валидирова-

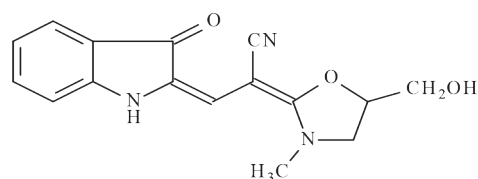


Рис. 1. Структурная формула GRS