

## „pH CHROMATOGRAFIA“ ANTIBIOTÍK (III) BÁZICKÉ ANTIBIOTIKÁ

VLADIMÍR BETINA

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej  
v Bratislave

V predchádzajúcich prácach [1, 2] sme referovali o výsledkoch štúdia niektorých antibiotík kyslého charakteru metódou „pH chromatografie“. Konštatovali sme závislosť kriviek  $R_F$  od troch veličín: od pH, rozdeľovacích koeficientov a disociačných konštánt antibiotík.

Výsledky štúdia niektorých bázických antibiotík pomocou „pH chromatografie“ prinášame v tejto práci.

### Experimentálna časť

#### Materiál a metódy

##### *Antibiotiká*

V pokusoch sme použili tieto preparáty bázických antibiotík: erytromycín (Ilotycin, Lilly), oleandomycín-fosfát (Pfizer) a spiramycín.

##### *Príprava chromatogramov*

Pre každé antibiotikum sme použili sériu pásov chromatografického papiera Whatman 1, impregnovaných na hodnoty pH od 2 do 10, takých istých rozmerov ako v prácach [1, 2]. Na štart chromatogramov sme nanášali tieto množstvá antibiotík: erytromycín 5 mcg (v metanole), oleandomycín 10 mcg (vo vode) a spiramycín 10 mcg (v metanole).

##### *Rozpúšťadlá*

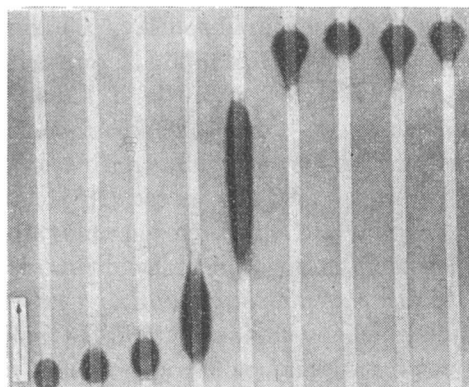
Pracovali sme s rozpúšťadlami, ktoré sa používajú pri izolácii jednotlivých antibiotík. Upotrebili sme etylacetát nasýtený vodou pre erytromycín a oleandomycín, amylacetát nasýtený vodou pre erytromycín a dietyléter nasýtený vodou pre spiramycín.

##### *Vyvíjanie a detekcia*

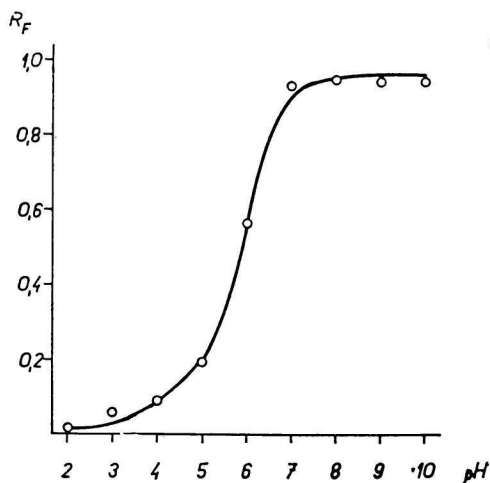
Vyvíjali sme vzostupne technikou opísanou v práci [1]. Detegovali sme bioautograficky na veľkých testovacích platniach. Ako testovací mikroorganizmus sme použili *Bacillus subtilis* SDPC (1 220).

### Výsledky

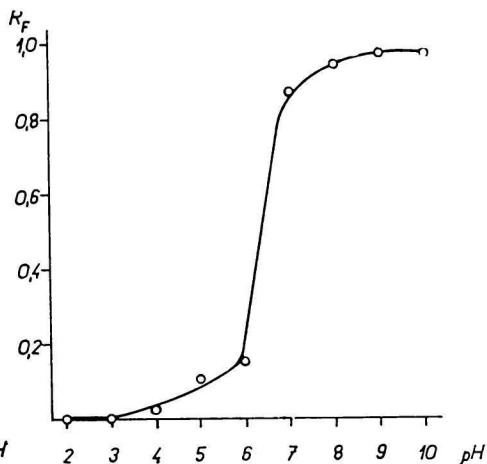
pH chromatogram erytromycínu v etylacetáte je na obr. 1. Krivka  $R_F$  z tohto pH chromatogramu je na obr. 2, z pH chromatogramu v amylacetáte na obr. 3. Z obidvoch kriviek vyplýva rovnaký postup pre izoláciu: extrakcia organickým rozpúšťadlom pri pH okolo 9 a reextrakcia do vodnej fázy pri pH 4, čo súhlasí s metódami priemyselnej extrakcie [3].



Obr. 1. pH chromatogram erytromycínu v etylacetáte.



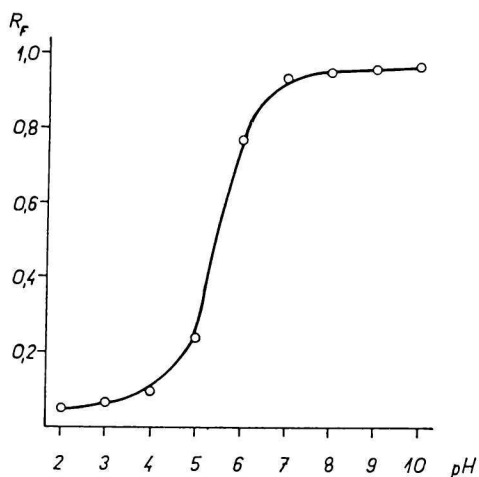
Obr. 2. Krivka  $R_F$  erytromycínu z pH chromatogramu v etylacetáte.



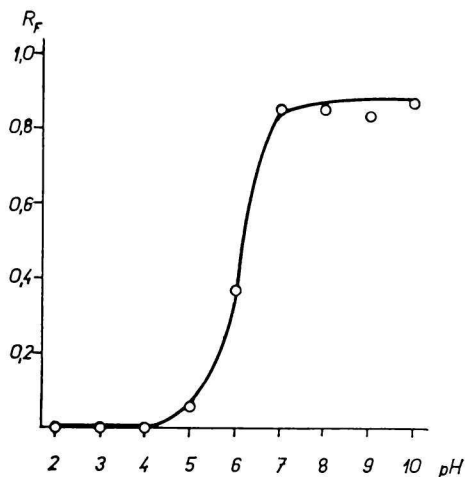
Obr. 3. Krivka  $R_F$  erytromycínu z pH chromatogramu v amylacetáte.

Pri izolácii oleandomycínu sa používa extrakcia organickými rozpúšťadlami z filtrátov fermentačných pôd pri pH 7—9 a reextrakcia do vodnej fázy pri pH 2 [4, 5]. Z pH chromatogramu v etylacetáte sme dostali krivku  $R_F$  (obr. 4), ktorá ukazuje podobné možnosti izolácie antibiotika.

Krivka  $R_F$  spiramycínu z pH chromatogramu v dietyléteri (obr. 5) poukazuje na možnosť extrakcie pri pH 9 a reextrakcie pri pH 2—4, čo je v súlade s izolačným postupom, ktorý použili objavitelia tohto antibiotika [6].



Obr. 4. Krivka  $R_F$  oleandomycínu z pH chromatogramu v etylacetáte.



Obr. 5. Krivka  $R_F$  spiramycínu z pH chromatogramu v dietyléteri.

### Diskusia a záver

pH chromatogramy uvedených troch antibiotík majú niekoľko spoločných znakov:

Esovité krivky  $R_F$  majú opačný priebeh ako krivky  $R_F$  antibiotík kyslého charakteru. Hodnoty  $R_F$  sa zväčšujú so vzrastajúcim pH. Minimálne hodnoty sú teda v kyslej oblasti a maximálne za neutrálnym bodom.

Analogicky ako sme ukázali na príkladoch antibiotík kyslého charakteru [1, 2], aj pH chromatogramy zásad poukazujú na vhodné pH pre extrakciu a reextrakciu. Tieto údaje súhlasia s používanými priemyselnými metódami. Ako sme ukázali na antibiotikách kyslého charakteru, krivky  $R_F$  sú určované disociačnými konštantami, hodnotami pH a rozdeľovacími koeficientmi pri jednotlivých pH. Z toho môžeme aj pre prípady bázičných antibiotík uzatvárať, že vhodné pH pre ich extrakciu organickými rozpúšťadlami z vody je v oblasti maximálneho  $R_F$ , kým pre reextrakciu do vodnej fázy je výhodná oblasť minimálneho  $R_F$ .

Ak použijeme podobné triedenie bázičných antibiotík podľa ich chromatogramov, ako sme použili pre kyseliny [2], patria spracované bázičné látky do kategórie „silnejších“ zásad, kde pre minimálne  $R_F$  platí vzťah

$$R_{F_{\min}} < 1/5 R_{F_{\max}}$$

Vo všetkých troch prípadoch sme mali minimálne hodnoty nulové alebo veľmi blízke nule.

Na rozdiel od antibiotík kyslého charakteru z kategórie „silnejších“ slabých kyselín [2] oblasť optimálnych hodnôt pH pre extrakciu leží bližšie neutrálneho bodu (pH 8—9, prípadne 7—9), kým oblasť vhodná pre reextrakciu je od neutrálneho bodu viacej vzdialená (pH 2—4). V prípade „silnejších“ kyselín to platí obrátene. Oblasť pH vhodná pre reextrakciu leží ďalej od neutrálneho bodu (pH 2—3) a oblasť pH pre reextrakciu do vodnej fázy je mu zasa bližšia (pH 7—9). Na základe tohto porovnávania môžeme povedať, že oblasť pH 2—3, vhodná pre extrakciu antibiotík z kategórie „silnejších“ slabých kyselín [2], je vhodnou oblasťou pre reextrakciu bázických antibiotík študovaných v tejto práci a obrátene, oblasť pH pre reextrakciu uvedenej skupiny kyselín (pH 7—9) je zároveň oblasťou vhodnou pre extrakciu bázických antibiotík.

Podobne ako sme ukázali na sérii antibiotík kyslého charakteru, aj pH chromatogramy bázických antibiotík udávajú správny iónový charakter týchto látok.

*Vzorku spiramycínu, použitú v tejto práci, poskytol dr. R. Despois zo Société des Usines Chimiques Rhône-Poulenc v Paríži, vzorku oleandomycínu dr. B. A. Sobin z Research Laboratories of Chaz. Pfizer and Co., Brooklyn.*

### Súhrn

V práci sú zhrnuté výsledky štúdia bázických antibiotík erytromycínu, oleandomycínu a spiramycínu metódou „pH chromatografie“. Krivky  $R_F$  získané z pH chromatogramov majú tvar písmena *S* a ich priebeh je opačný ako v prípade antibiotík kyslého charakteru. Údaje pH chromatogramov o možnostiach izolácie bázických antibiotík extrakčnými metódami sa zhodujú s používanými priemyselnými postupmi.

## «pH ХРОМАТОГРАФИЯ» АНТИБИОТИКОВ (III) ОСНОВНЫЕ АНТИБИОТИКИ

ВЛАДИМИР БЕТИНА

Кафедра технической микробиологии и биохимии  
Словацкой высшей технической школы в Братиславе

### Выводы

В работе собраны результаты изучения основных антибиотиков эритромицина, олеандомицина и спирамицина «рН хроматографическим» методом. Кривые  $R_F$  приобретенные из рН хроматограмм имеют *S* образную форму и их ход обратный в сравнении с антибиотиками кислого характера. Данные рН хроматограмм о возможностях изоляции основных антибиотиков экстракционными методами совпадают с методами применяемыми в промышленности.

Поступило в редакцию 23. 11. 1960 г.

„pH-CHROMATOGRAPHIE“ DER ANTIBIOTIKA (III)  
BASISCHE ANTIBIOTIKA

VLADIMÍR BETINA

Lehrstuhl für technische Mikrobiologie und Biochemie an der Slowakischen Technischen  
Hochschule in Bratislava

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse des Studiums der basischen Antibiotika Erythromycin, Oleandomycin und Spiramycin mit Hilfe der Methode der „pH-Chromatographie“ zusammengefasst. Die Kurven  $R_F$ , erhalten aus den pH-Chromatogrammen, weisen die Gestalt des Buchstabens *S* auf und deren Verlauf ist der umgekehrte wie im Falle der Antibiotika sauren Charakters. Die Angaben der pH-Chromatogramme über die Möglichkeiten einer Isolierung der basischen Antibiotika durch Extraktionsmethoden stimmen mit den verwendeten Industrieverfahren überein.

In die Redaktion eingelangt den 23. 11. 1960

LITERATÚRA

1. Betina V., „pH chromatografia“ antibiotik (I). *Biosyntetické penicilíny*, Chem. zvesti 15, 661 (1961). — 2. Betina V., „pH chromatografia“ antibiotik (II). *Antibiotiká kyslého charakteru*, Chem. zvesti 15, 750 (1961). — 3. Underkofler L. A., Hickey R. J., *Industrial Fermentations II*, New York 1954. — 4. Sobin B. A., English A. R., Celmer W. D., *P. A. 105, a New Antibiotic*, Antibiotics Annual 1954—1955, 827 (1955). — 5. Sobin B. A., Routien I., Leas T., USP 2757123; 50, 15032 (1956). — 6. Pinnert—Sindico S., Ninet L., Prued'Homme J., Cosar C., *A New Antibiotic-Spiramycin*, Antibiotics Annual 1954—1955, 724 (1955).

Do redakcie došlo 23. 11. 1960

*Adresa autora:*

*Inž. Vladimír Betina, C. Sc., prom. biológ, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón SVŠT.*