

Д. А. Горлов, И. С. Селезнева, М. Н. Иванцова
Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург
dengorl1998@rambler.ru

СРАВНЕНИЕ НОВЫХ МЕТОДОВ ИММОБИЛИЗАЦИИ ПЕНИЦИЛЛИНАЦИЛАЗЫ

Приведено сравнение эффективности химической и ферментативной технологии производства антибиотиков пенициллинового ряда. Дана оценка некоторым современным методам иммобилизации фермента пенициллинацилазы. Выбраны наиболее эффективные и ресурсоемкие. Их применение в промышленности позволит повысить производительность и снизить себестоимость конечного продукта.

Ключевые слова: энергосбережение, ресурсосбережение, ферментативные технологии, пенициллиновые антибиотики.

D. A. Gorlov, I. S. Selezneva, M. N. Ivantsova
Ural Federal University, Ekaterinburg
dengorl1998@rambler.ru

COMPARISON OF NEW METHODS IN PENICILLINACYLASE IMMOBILIZATION

A comparison of the effectiveness of chemical and enzymatic technology for the penicillin antibiotics production is given. Some modern methods of immobilization of the penicillin-cyclase enzyme are evaluated. The most effective and resource-intensive ones were selected. Their application in industry will increase productivity and reduce the self-cost of the final product.

Keywords: energy saving, resource saving, enzymatic technologies, penicillin antibiotics.

В настоящее время проблемы ресурсо- и энергосбережения стоят особенно остро, т. к. уже известно, что многие общепотребитель-

ные энергоресурсы могут исчерпаться в скором времени. Поэтому перед всей современной промышленностью стоит сложная задача: при сохранении темпов роста стремиться к минимальному потреблению энергии и ресурсов. Применительно к фармацевтической отрасли данная задача состоит в том, чтобы упростить синтез сложных лекарств, а также снизить расход реагентов на операцию. Ведь реакции часто протекают в жестких условиях, для обеспечения которых требуются большие расходы теплоносителей и органических растворителей, а также создание избыточного давления, вследствие чего тратится много энергии и образуется множество вредных отходов, при этом выход целевого продукта может быть не выше 50 %.

В 70-х годах XX века стало бурно развиваться ферментативное производство, которое не обошло стороной и фармацевтическую отрасль. Ферментный синтез помог решить существующие проблемы: реакции протекают в условиях, близких к нормальным, а из-за высокой степени сродства фермента и субстрата, выход продукта часто близок к 100 %. Однако, у этого способа все же есть свои недостатки, а именно: дорогостоящее производство ферментов, их лабильность и недолговечность, в отличие от неорганических катализаторов.

Следовательно, в наши дни, основной целью мировой ферментативной промышленности является рационализация использования биокатализаторов. Достигнуть этого помогает иммобилизация энзимов различными способами [1]. Наиболее распространена химическая иммобилизация фермента на подложке, посредством реакций аминогрупп энзима с альдегидными группами соединений, закрепленных на подложке. Но и этот метод имеет ряд недостатков, таких как: токсическое действие органических веществ на фермент и появление дополнительных стадий.

У иммобилизованного фермента увеличивается важный показатель, которым оперируют при оценке рентабельности производств - масса продукта, которую можно получить, задействовав 1 кг иммобилизованного фермента. Так, в случае дорогостоящих лекарственных средств, она должна составлять не менее 50–100 кг [2], таким образом, снижается включение стоимости фермента в стоимость конеч-

ного продукта. Кроме того, иммобилизация приводит к повышению стабильности самого биокатализатора: становится возможным его использование в более широком диапазоне pH, а также в средах с более чем 50 %-ным содержанием органических растворителей [3].

В связи с этим, было решено провести сравнительный анализ исследований в области иммобилизации пенициллинацилазы за последний год и сравнить их по следующим показателям: сохранение активности по сравнению с природным ферментом, снижение этой активности за 10 циклов использования, стоимость субстрата для иммобилизации (табл.). Цена пенициллинацилазы составляет 32671 руб. за 1 г [3].

Сравнение новых методов иммобилизации

Метод иммобилизации	Сохранение активности, %	Снижение активности за 10 циклов, %	Стоимость реагента за 10 г или 10 мл, руб.	Сумма, руб.
На наночастицах SiO ₂ с покрытием ZIF-8 [4]	88–93	20	TEOS: 118; СТАВ: 898; APTES: 623; 2-MeIM: 20; GA: 365	2024
На различных смолах, связанных с глюкозамином [5]	35	<10	1) Sepabeads: 187; 2) Relizyme: 223; Глюкозамин: 2900	1) 3087 2) 3123
На магнитных частицах на подложке из оксида графена [6]	74	30	Fe(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O: 354; Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O: 263; Ni(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O: 2291; NaNO ₃ : 89; TEOS: 118; NHS: 853; EDC: 5700 (за 1 г)	9668
На микропористой пленке [7]	94	20	TEOS: 118; P123: 163; GA: 365; NH ₄ F: 284; APTES: 623; TMB: 36	1589
На термочувствительном трехблочном полимере [8]	85	25	GMA: 176; НЕМА: 27 DEA: 11951; PDAB: 300 Додеканетиол: 63	12517
На макропористом полимере [9]	70	13	APTES: 623; Al/PrO: 90; GA: 365; P123: 163; PS: 42	1283

По данным, представленным в таблице, можно сделать следующий вывод: использование различных полимерных носителей позволяет дешево [4, 7, 9] иммобилизовать ферменты без существенной потери их активности и увеличить их срок службы. В то же время закрепление фермента на магнитоактивных частицах [6] позволяет достаточно легко выделить катализатор из смеси, но этот способ достаточно дорогостоящий и требует большего количества стадий приготовления подложки для иммобилизации фермента.

Список использованных источников

1. Kallenberg A. I., Rantwijk Fred van, Sheldon R. A. Immobilization of penicillin G acylase: the key to optimum performance // *Adv. Synthesis & Catalysis*. 2005. Vol. 347 (7-8). P. 905–926. DOI: 10.1002/adsc.200505042
2. Tufvesson P., Lima-Ramos J., Nordblad M., Woodley J. M. Guidelines and cost analysis for catalyst production in biocatalytic processes // *Org. Process Research & Development*. 2011. Vol. 15 (1). P. 266–274. DOI: 10.1021/op1002165
3. Sigma Aldrich [Электронный ресурс]. Merck KGaA, Darmstadt, Germany. 2019. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/russian-federation.html> (дата обращения 21.11.2019).
4. Du Y., Gao J., Liu H. et al. Enzyme@silica nanoflower@metal-organic framework hybrids: A novel type of integrated nanobiocatalysts with improved stability // *Nano Research*. 2018. Vol. 11 (8). P. 4380–4389. DOI:10.1007/s12274-018-2027-7
5. Serra I. et al. Developing a Novel Enzyme Immobilization Process by Activation of Epoxy Carriers with Glucosamine for Pharmaceutical and Food Applications // *Catalysts*. 2019. Vol. 9 (10). P. 843–858. URL: <https://doi.org/10.3390/catal9100843>
6. Yu Q., Wang Z., Liu R. Covalent immobilization and characterization of penicillin G acylase on amino and GO functionalized magnetic Ni_{0.5}Zn_{0.5}Fe₂O₄@SiO₂ nanocomposite prepared via a novel rapid-combustion process // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. 134. P. 507–515. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.05.066
7. Ayakar S. R., Yadav G. D. Development of novel support for penicillin acylase and its application in 6-aminopenicillanic acid production // *Mol. Catalysis*. 2019. Vol. 476. P. 110484. URL: <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2019.110484>
8. Li Ke, Liu X. T., Zhang Y. F. et al. The engineering and immobilization of penicillin G acylase onto thermos-sensitive tri-block copolymer system // *Polymers for Advanced Technologies*. 2018. Vol. 30 (39). P. 86–93. DOI: 10.1002/pat.4446
9. Zhou L., Luo X., Li J. et al. Meso-molding three-dimensionally ordered macroporous alumina: A new platform to immobilize enzymes with high performance // *Biochem. Eng. J.* 2019. Vol. 146. P. 60–68. DOI: 10.1016/j.bej.2019.03.002