

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

- 全国中文核心期刊
- 中国生物医学核心期刊
- 中国期刊方阵入选期刊

- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 华东地区优秀期刊

本期导读：

Negishi 交叉偶联反应在药物化学中的应用

张庆文

生理药代动力学建模在药剂学中的应用

刘宏锐，陈芳，相小强，全应军，金莎莎



微信号 : cjph-cjph



主 办
上海医药工业研究院
中国药学会
中国化学制药工业协会

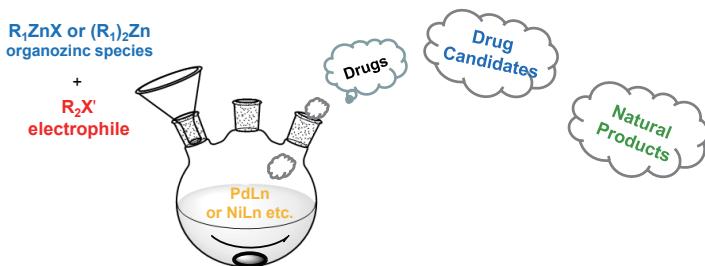
4

2019年4月

第50卷
Vol.50 No.4

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

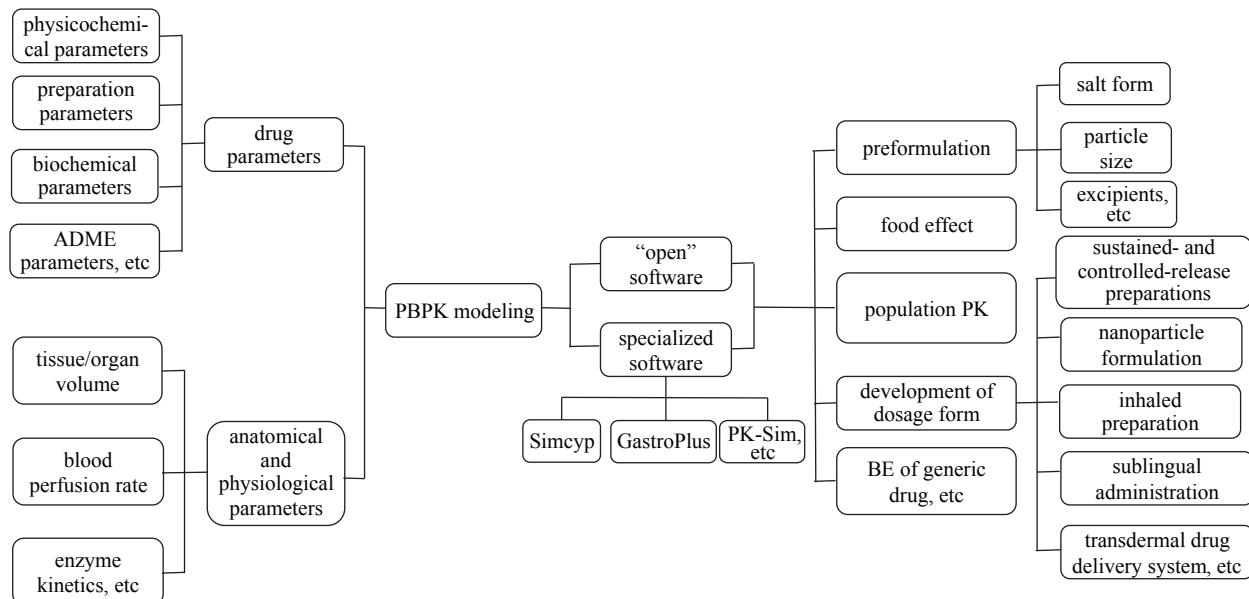
- 359 Negishi 交叉偶联反应在药物化学中的应用 张庆文
 Application of Negishi Cross-coupling in the Synthesis of Bioactive Molecules ZHANG Q W
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.001



I therefore chose with much enthusiasm "Discovery and Development of New Organic Synthetic Reactions Catalyzed by Transition Metals" as the central topic of my life-long research projects.

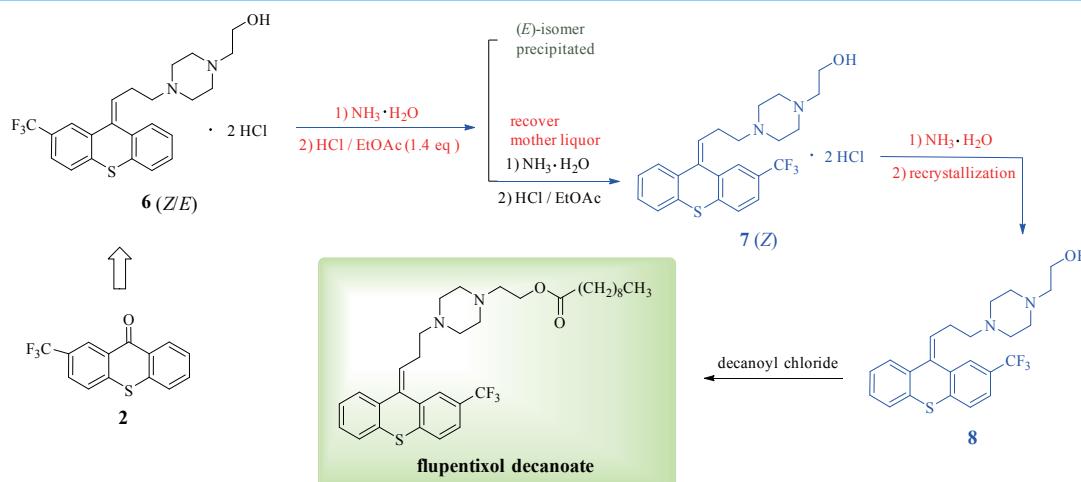
--- Ei-ichi Negishi

- 383 生理药代动力学建模在药剂学中的应用 刘宏锐, 陈 芳*, 相小强, 全应军, 金莎莎
 Application of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Pharmaceutics LIU H R, CHEN F*, XIANG X Q, QUAN Y J, JIN S S
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.002



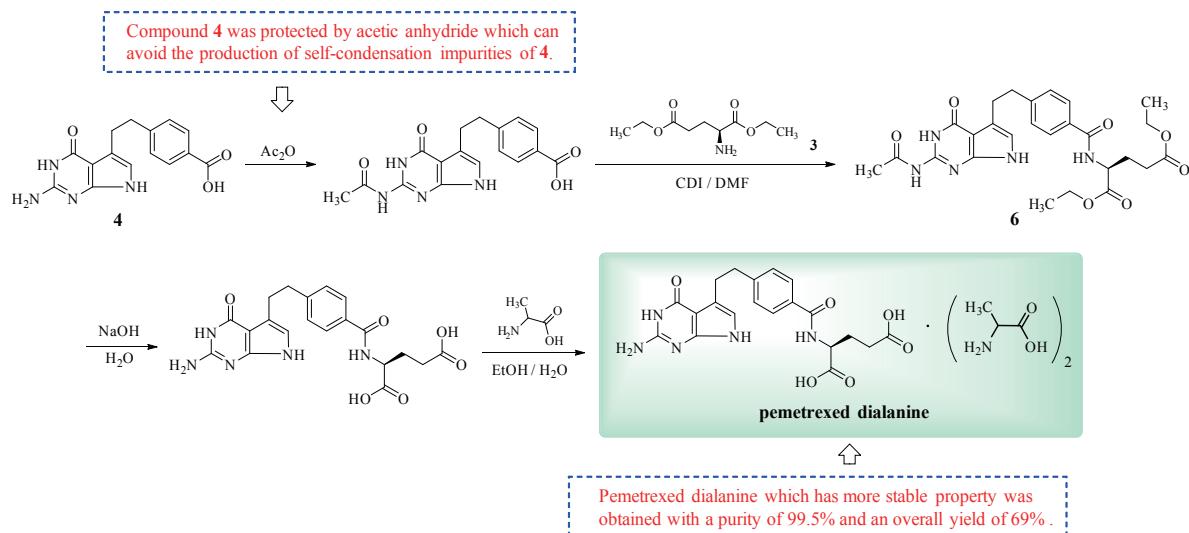
· 研究论文(Paper) ·

392 氟哌噻吨癸酸酯的合成.....陈道鹏, 王圣庆, 杨相平, 马彦琴, 张桂森
 Synthesis of Flupentixol Decanoate.....CHEN D P, WANG S Q, YANG X P, MA Y Q, ZHANG G S
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.003

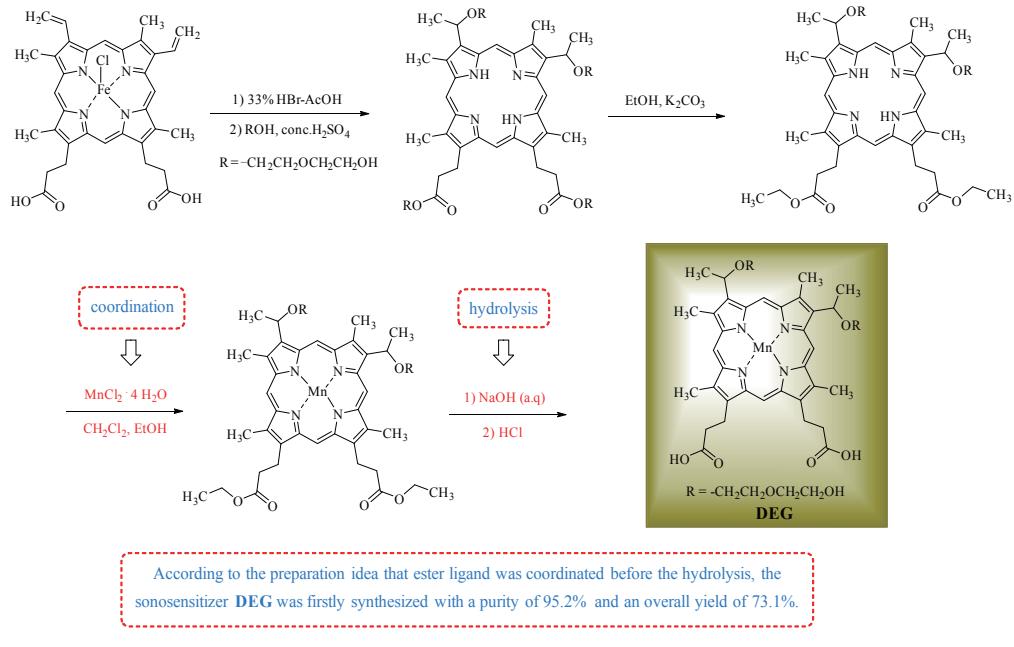


(Z)-Flupentixol (8) was separated via a new method with a purity of 99.9% and a yield of 29.6%, and the separation method has been patented and authorized in 2009.

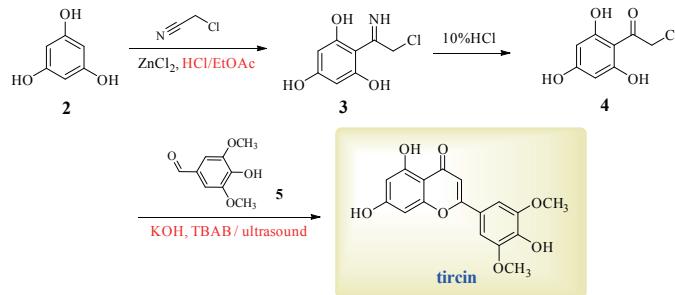
396 培美曲塞二丙氨酸盐的合成.....高 纪, 许建国, 臧 超, 唐云峰, 张贵民*
 Synthesis of Pemetrexed Dialanine.....GAO J, XU J G, ZANG C, TANG Y F, ZHANG G M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.004



399 声敏剂DEG的合成.....陈俊磊, 赵明*, 时志春, 李军, 张树军
 Synthesis of Sonosensitizer DEG.....CHEN J L, ZHAO M*, SHI Z C, LI J, ZHANG S J
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.005

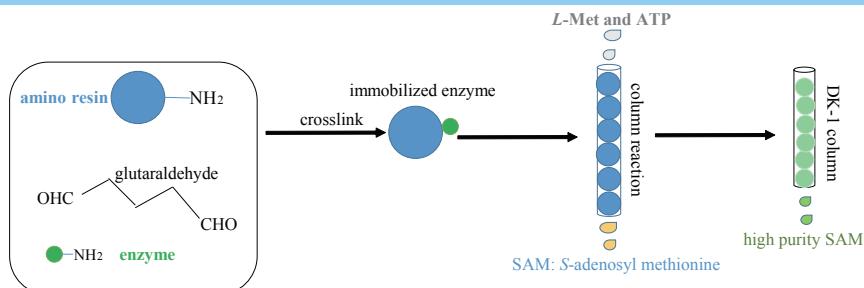


403 超声波相转移催化合成苜蓿素.....褚朝森, 王晓丽, 胡玉涛, 李天雪, 王政
 Synthesis of Tricin by Ultrasonic Phase Transfer Catalysis.....CHU C S, WANG X L, HU Y T, LI T X, WANG Z
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.006

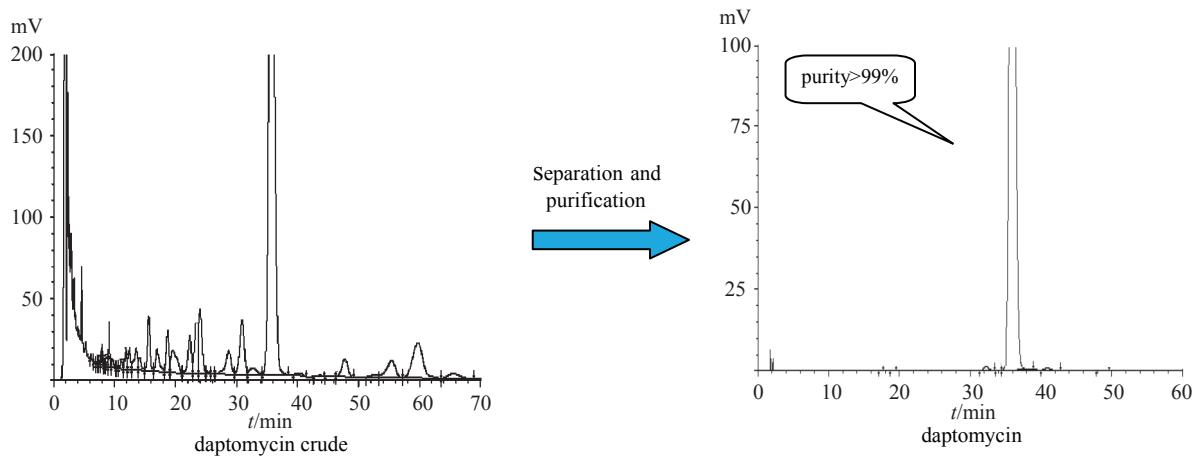


Tricin was prepared by a new method with a total yield of 74.1%, and the method for preparing tricin from 4 has not yet been reported in literature.

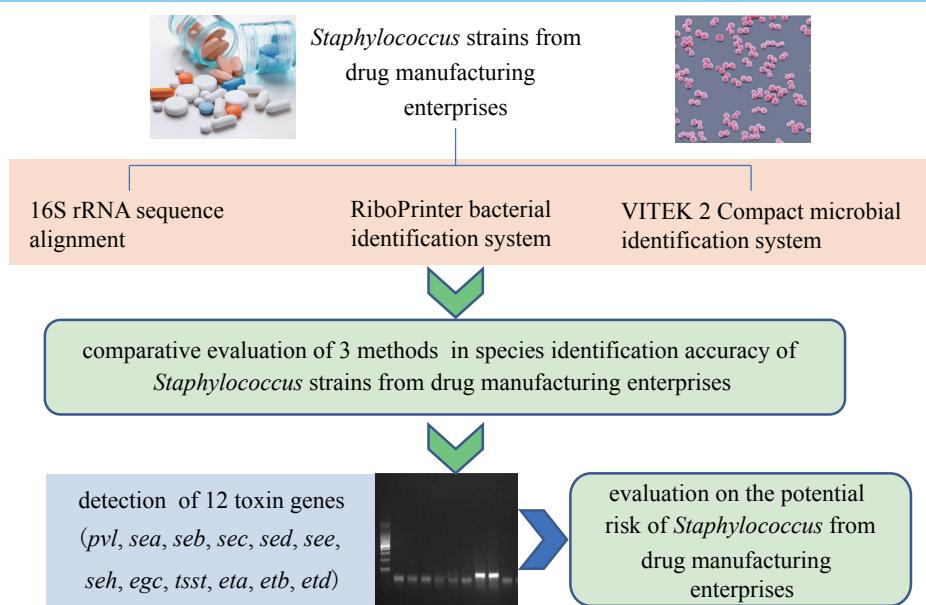
406 嗜热S-腺苷甲硫氨酸合成酶的固定化及S-腺苷甲硫氨酸的制备.....化浩举, 吴勇, 黄宗庆, 张喜全, 冯军*
 Immobilization of Thermophilic S-Adenosylmethionine Synthetase and Preparation of S-Adenosyl methionine.....HUA H J, WU Y, HUANG Z Q, ZHANG X Q, FENG J*

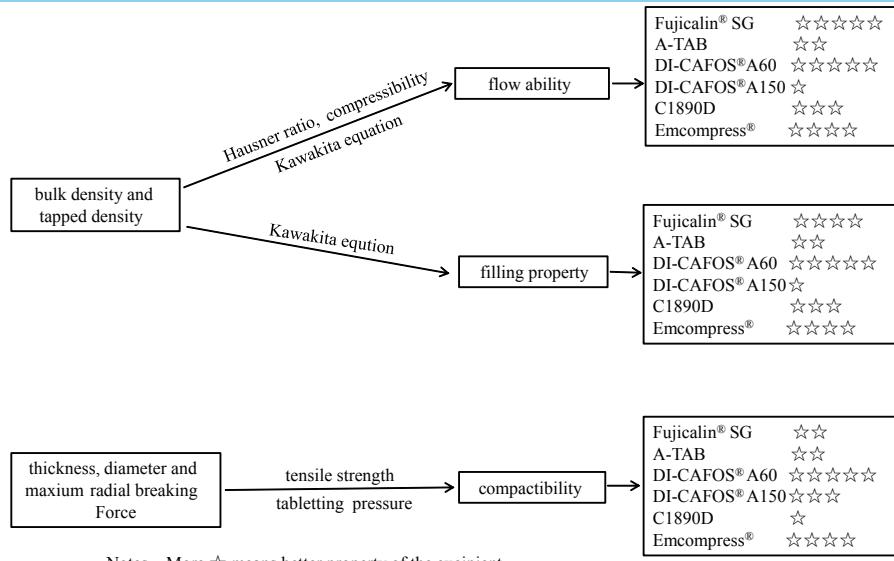
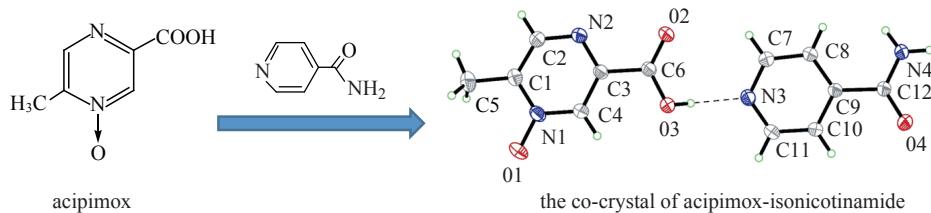
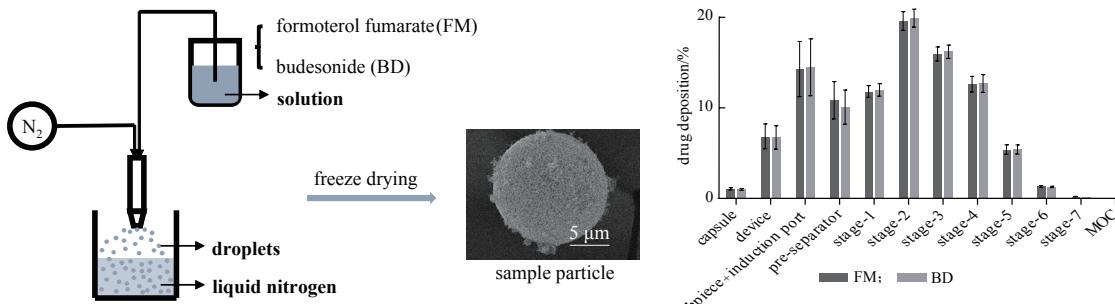


- 411 达托霉素的分离纯化工艺.....郭朝江, 王蒙, 刘忠, 李春利, 张贵民*
 Separation and Purification Process of Daptomycin.....GUO C J, WANG M, LIU Z, LI C L, ZHANG G M*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.008

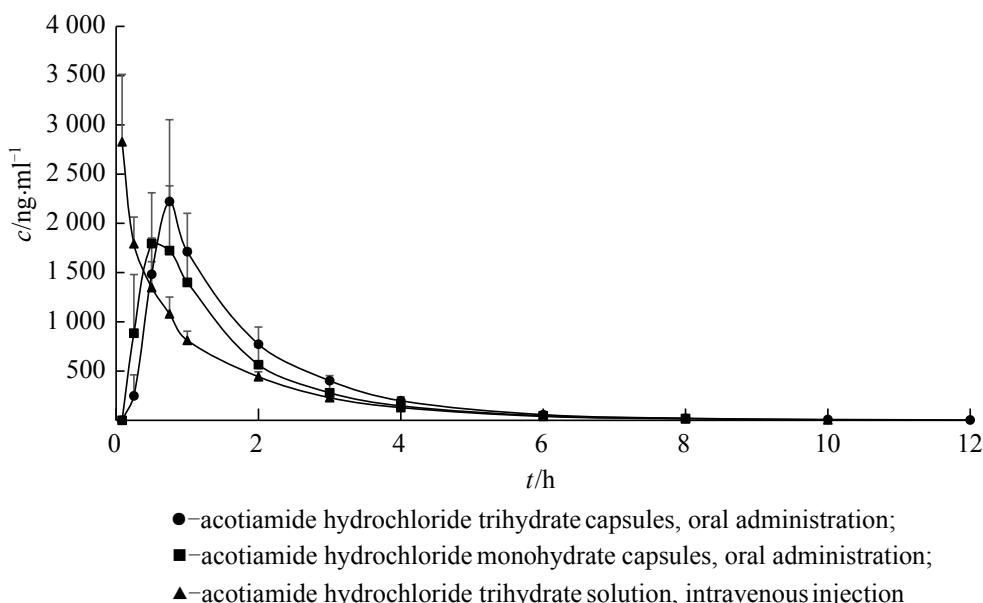
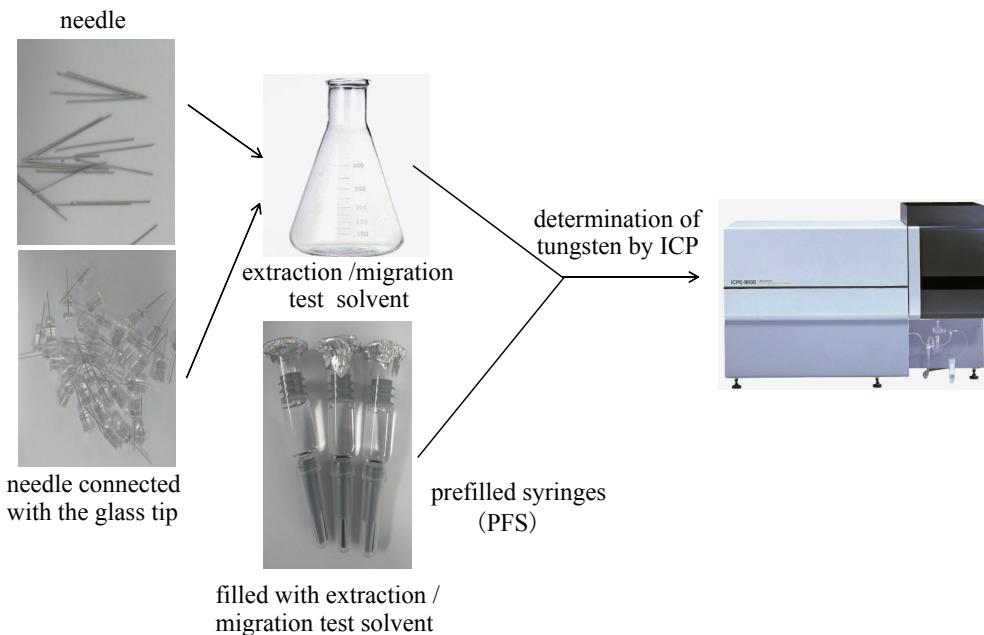


- 416 制药企业生产环境中污染葡萄球菌菌种鉴定方法的比较评价及毒素基因调查分析.....李琼琼, 宋明辉, 秦峰, 刘浩, 杨美成*
 Species Identification Analysis by Different Methods and Toxin Genes Detection of *Staphylococcus* Strains Isolated from Drug Manufacturing Enterprises.....LI Q Q, SONG M H, QIN F, LIU H, YANG M C*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.009





Notes: More ☆ means better property of the excipient



- 450 基于注册申请人视角的药品优先审评制度实施情况调查分析.....陆承坤, 王雨杉, 蒋 蓉, 邵 蓉*
Investigation and Analysis of the Implementation of Drug Priority Review System Based on the Perspective of Registered Applicants.....LU C K, WANG Y S, JIANG R, SHAO R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.015

- 456 医药工业的计算机化过程中遗留系统的验证策略.....赵晨阳, 朱建伟*
Validation Strategy for Legacy Systems in Computerization of Pharmaceutical Industry.....ZHAO C Y, ZHU J W*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.016

- 464 GMP 背景下的制药企业六西格玛管理应用研究: 以BT 公司为例.....李东昂, 梁 毅*
Application of Six Sigma Management in Pharmaceutical Enterprises Based on GMP: A Case from BT Company.....LID A, LIANG Y*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.017

· 其他 ·

广告索引(402)

《中国医药工业杂志》征订(470)

制剂技术文摘 P50-4~6(391) P50-7~8(463) P50-9(469)

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2019年第50卷 第4期 4月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.50 No.4 April 10, 2019

©All Rights Reserved

主 管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主 办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协 办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总 编 辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副 总 编 辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责 任 编 辑	刘玲玲	Executive Editor	LIU Lingling
编 辑 出 版	《中国医药工业杂志》编辑部	Editor by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编 辑 部 地 址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road(W), Shanghai 200040, China
电 话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传 真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电 子 邮 件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网 址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电 话	021-62474272	Tel	021-62474272
传 真	021-62473200	Fax	021-62473200
电 子 邮 件	taoxh@pharmadl.com ouyy@pharmadl.com	E-mail	taoxh@pharmadl.com ouyy@pharmadl.com
印 刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发 行 范 围	公开发行		
国 内 发 行	上海市报刊发行局	Domestic Distributed by	Local Post Office
国 外 发 行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国 内 订 阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人: 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*112*zh*P*20.00* *17*2019-04

2019年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205

国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

达托霉素的分离纯化工艺

郭朝江, 王蒙, 刘忠, 李春利, 张贵民*

(鲁南制药股份有限公司, 山东临沂 273400)

摘要: 联合应用反相色谱树脂和离子交换树脂分离纯化达托霉素, 比较各树脂的载样量、累积洗脱回收率和纯化倍数确定树脂型号。依次采用 LP20MM 反相色谱树脂、NM-Q 离子交换树脂和 XT-30 反相色谱树脂进行分离纯化, 纯化工艺参数: 将粗分离发酵液上样于 LP20MM 反相色谱树脂柱, 用 10% 乙腈溶液洗脱, 收集达托霉素纯度大于 80% 的洗脱液, 上样于 NM-Q 离子交换树脂柱, 用 10 g/L 氯化钠溶液洗脱, 收集达托霉素纯度大于 90% 的洗脱液, 上样于 XT-30 反相色谱树脂柱, 用 50% 乙醇 (含乙酸铵 40 mmol/L) 溶液洗脱, 收集达托霉素纯度大于 99% 的洗脱液, 经纯化后达托霉素的纯度达到 99.3%, 纯化收率为 57.5%。

关键词: 达托霉素; 分离; 纯化; 反相色谱树脂; 离子交换树脂

中图分类号: TQ465 文献标志码: A 文章编号: 1001-8255(2019)04-0-05

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.04.008

Separation and Purification Process of Daptomycin

GUO Chaojiang, WANG Meng, LIU Zhong, LI Chunli, ZHANG Guimin*

(Lunan Pharmaceutical Co., Ltd., Linyi 273400)

ABSTRACT: The separation and purification of daptomycin was processed by the reversed-phase chromatographic resins in combination with ion-exchange resins. The parameters including loading capacity, cumulative elution recovery and purification fold was compared to confirm the optimal resins. The LP20MM reversed-phase chromatographic resin, NM-Q ion-exchange resin and XT-30 reversed-phase chromatographic resin were used respectively. The parameters of the purification process were listed as follows. The pre-treatment broth was loaded into the LP20mm reversed-phase chromatographic resin column and eluted with 10% acetonitrile aqueous solution to collect the fractions with the purity more than 80%. The resulted elutes were purified by NM-Q ion-exchange resin column with 10 g/L NaCl aqueous solution as the eluent, then the fractions with the purity greater than 90% were collected. The elutes were further purified by XT-30 reversed-phase chromatographic resin column and washed with 50% ethanol aqueous solution (containing 40 mmol/L ammonium acetate) to collect the fractions with purity over 99%. The final purity of daptomycin was 99.2% with the total yield of 57.5%.

Key Words: daptomycin; separation; purification; reversed-phase chromatographic resin; ion-exchange resin

达托霉素 (daptomycin, 1) 是自玫瑰孢链霉菌 (*Streptomyces roseosporus*) 发酵液中提取得到的一

收稿日期: 2018-09-18

作者简介: 郭朝江(1976—), 男, 高级工程师, 从事生物药的研究与开发。

E-mail: guo_cj77@sina.com

通信联系人: 张贵民(1969—), 男, 研究员, 从事药物的研究与开发。

Tel: 0539-5030319

E-mail: lunanzhangguimin@163.com

种环酯肽类抗生素^[1]。**1** 具有新颖的化学结构, 能在多个方面破坏细菌细胞膜的功能, 迅速杀死革兰阳性菌^[2]。**1** 在临幊上表现出广谱、药效快、给药量小和不良反应少等优点, 被批准用于治疗革兰阳性菌引起的复杂性皮肤和皮肤结构感染, 以及由金黄色葡萄球菌引起的菌血症及右路心内膜炎症^[3]。此外, **1** 在体外对耐甲氧西林和利奈唑胺的菌株仍具有较强活力^[4]。

1 的分子结构中含有 4 个侧链羧酸 (3 个门冬氨酸和 1 个甲基谷氨酸), 这些残基的 pK_a 值为 3~6, **1** 的结构中又含有脂链和疏水性氨基酸, 决定了 **1** 具有两亲性的生物学特性。**1** 在 $pH=pI$ 条件下呈中性分子, 在其他 pH 值下呈不同的活性状态^[5]。本研究根据 **1** 的特性联合应用反相色谱法和离子交换色谱法分离纯化 **1**, 确定了最佳树脂型号和工艺参数, 为制备高纯度的 **1** 提供技术参考。

1 仪器与试药

LC-20A 型高效液相色谱仪, 含 SPD-20A 型紫外检测器 (日本 Shimadzu 公司)。

1 对照品 (含量 98.35%, 批号 1-TAH-28-1, 加拿大 TRC 公司); 发酵液 (批号 180401, 鲁南新时代生物技术有限公司); 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

LP20MM (批号 5B101) 和 HP20SS (批号 7E802) 反相色谱树脂 (日本三菱化学株式会社); CG161 (批号 YY00EC40F9) 和 XT-30 (批号 YY00G6U092) 反相色谱树脂 (上海罗门哈斯化工有限公司); UniPMM40 (批号 MB03M05)、UniPS20 (批号 MC07M09) 反相色谱树脂, NM-Q (批号 C06W24) 离子交换树脂 (苏州纳微生物科技有限公司); D301 离子交换树脂 (批号 2017121002, 安徽三星树脂公司); HZD-9 (批号 2017050901) 和 D315 (批号 2017061103) 离子交换树脂 (上海华震公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Phenomenex IB-Sil C₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 0.45% 磷酸二氢铵溶液 (用磷酸调节 pH 值至 3.25): 乙腈 (67:33); 流速 1.5 ml/min; 检测波长 214 nm; 柱温 25 °C; 进样量 20 μl 。

2.2 溶液配制

对照品溶液: 精密称取 **1** 对照品 25 mg, 置 25 ml 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摆匀, 制成含 **1** 浓度为 1 mg/ml 的对照品溶液, 于 4 °C 冰箱内避光保存。

供试品溶液: 用流动相将过柱液或洗脱液中的 **1** 稀释至约 1 mg/ml, 用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3 反相色谱树脂 (**I**) 的分离纯化

2.3.1 反相色谱树脂 (**I**) 载样量的考察

将粗分离发酵液用 2 mol/L 的乙酸调节 pH 值至 7.0, 以 0.8 BV/h 的流速上样于反相色谱树脂柱, 分批收集过柱液并准确记录其体积。按“2.1”项下色谱条件分别测定粗分离发酵液和每份过柱液中 **1** 的浓度, 按照峰面积归一化法计算 **1** 的纯度。当过柱液和上样液中 **1** 的浓度相同时, 说明反相色谱树脂柱达到饱和, 计算 LP20MM、CG161、XT-30 和 UniPMM40 反相色谱树脂的载样量分别为 25.2、18.1、20.4 和 15.9 mg/ml, LP20MM 反相色谱树脂对 **1** 的载样量最大, XT-30 反相色谱树脂的载药量其次。

2.3.2 反相色谱树脂 (**I**) 累积洗脱回收率的考察

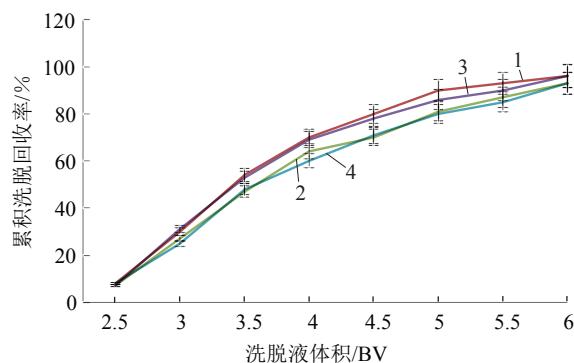
上样结束后, 用 pH 7.0 的 10% 乙腈溶液洗脱载样后的反相色谱树脂柱, 洗脱剂流速为 0.8 BV/h。分别收集反相色谱树脂柱的洗脱液 (每份约 0.5 BV) 并准确记录其体积。按“2.1”项下色谱条件分别测定每份洗脱液中 **1** 的浓度和纯度, 计算不同洗脱液体积时的 **1** 累积洗脱回收率。合并混匀 **1** 纯度大于 80% 的反相色谱树脂柱洗脱液, 测定其中 **1** 的纯度。

累积洗脱回收率 - 洗脱液体积曲线如图 1 所示, 4 种反相色谱树脂的最终累积洗脱回收率均可达 90% 以上。当洗脱液体积为 5 BV 时, LP20MM 反相色谱树脂柱的洗脱液中 **1** 的累积洗脱回收率达 90.7%, 优于 CG161、XT-30 和 UniPMM40 反相色谱树脂, 表明 LP20MM 反相色谱树脂对 **1** 的纯化作用最强。各个反相色谱树脂柱的洗脱液合并液中 **1** 的纯度结果见表 1, LP20MM 反相色谱树脂对 **1** 的纯化效果优于其他 3 种反相色谱树脂。综合考虑树脂载样量、累积洗脱回收率和对 **1** 的纯化效果, 选择 LP20MM 作为第一步反相色谱树脂。

2.4 离子交换树脂的分离纯化

2.4.1 离子交换树脂载样量的考察

用 2 mol/L 的氢氧化钠溶液调节反相色谱树脂 (**I**) 洗脱合并液的 pH 值至 7.5, 以 1 BV/h 的流速上样于离子交换树脂柱, 分批收集过柱液并准确记录其体积。按“2.1”项下色谱条件分别测定每份过柱液中 **1** 的浓度, 按照峰面积归一化法计算 **1**



1-LP20MM ; 2-CG161 ; 3-XT-30 ; 4-UnipMM40

图1 不同反相色谱树脂柱(I)的累积洗脱回收率曲线的比较

Fig.1 Comparison of Cumulative Elution Recovery Curves of 1 among Different Reversed-phase Chromatographic Resin Columns (I)

表1 不同反相色谱树脂柱(I)洗脱液合并液中1的纯度

Tab.1 Purities of 1 in Combined Elution of Different Reversed-phase Chromatographic Resin Columns (I)

树脂型号	LP20MM	CG161	XT-30	UniPMM40
粗分离发酵液中1的纯度/%	60.2			
洗脱液合并液中1的纯度/%	88.6	84.7	87.5	85.8
纯化倍数	1.47	1.41	1.45	1.43

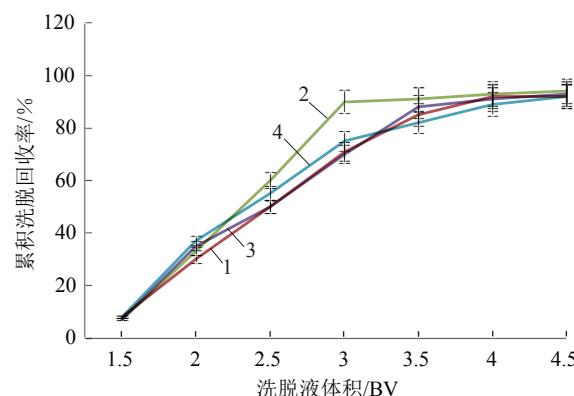
的纯度。当过柱液和上样液中 1 的浓度相同时, 说明离子交换树脂柱达到饱和, 计算 D301、NM-Q、HZD-9 和 D315 离子交换树脂的载样量分别为 5.8、9.9、6.5 和 4.8 mg/ml, NM-Q 离子交换树脂对 1 的载样量最大, HZD-9 离子交换树脂的载样量其次。

2.4.2 离子交换树脂累积洗脱回收率的考察

上样结束后, 用 10 g/L 的氯化钠溶液洗脱载样后的离子交换树脂柱, 洗脱剂流速为 1 BV/h。将离子交换树脂柱的洗脱液分别收集 (每份约 0.5 BV) 并准确记录其体积。按“2.1”项下色谱条件分别测定每份洗脱液中 1 的浓度和纯度, 计算不同洗脱体积时的 1 累积洗脱回收率。合并混匀 1 纯度大于 90% 的离子交换树脂柱洗脱液, 测定其中 1 的纯度。

累积洗脱回收率 - 洗脱液体积曲线如图 2 所示, 4 种离子交换树脂柱的最终累积洗脱回收率均可达 90% 以上。当洗脱液体积为 3 BV 时, NM-Q

离子交换树脂柱的洗脱液中 1 的累积洗脱回收率达 90%, 优于 D301、HZD-9 和 D315 离子交换树脂, 表明 NM-Q 离子交换树脂对 1 的纯化作用最强。各个离子交换树脂柱的洗脱液合并液中 1 的纯度结果见表 2, NM-Q 离子交换树脂对 1 的纯化效果优于其他 3 种离子交换树脂。综合考虑树脂载样量、累积洗脱回收率和对 1 的纯化效果, 选择 NM-Q 作为离子交换树脂。



1-D301 ; 2-NM-Q ; 3-HZD-9 ; 4-D315

图2 不同离子交换树脂柱1的累积洗脱回收率曲线的比较

Fig.2 Comparison of Cumulative Elution Recovery Curves of 1 among Different Ion-exchange Resin Columns

表2 不同离子交换树脂柱洗脱液合并液中1的纯度
Tab.2 Purities of 1 in Combined Elution of Different Ion-exchange Resin Columns

树脂型号	D301	NM-Q	HZD-9	D315
上样液中1的纯度/%	88.6			
洗脱液合并液中1的纯度/%	90.7	92.5	90.5	91.1
纯化倍数	1.02	1.04	1.02	1.03

2.5 反相色谱树脂(II)的分离纯化

2.5.1 反相色谱树脂(II)载样量的考察

用乙酸调节离子交换树脂洗脱合并液的 pH 值至 4.0, 以 0.5 BV/h 的流速上样于反相色谱树脂柱, 分批收集过柱液并准确记录其体积。按“2.1”项下色谱条件分别测定每份过柱液中 1 的浓度, 按照峰面积归一化法计算 1 的纯度。当过柱液和上样液中 1 的浓度相同时, 说明反相色谱树脂柱达到饱和, 计算 HP20SS、CG161、XT-30 和 UniPS20

反相色谱树脂的载样量分别为 21.6、16.1、23.4 和 19.8 mg/ml, XT-30 反相色谱树脂对 **1** 的载样量最大, HP20SS 反相色谱树脂的载药量其次。

2.5.2 反相色谱树脂(II) 累积洗脱回收率的考察

上样结束后, 用 pH 4.0 的 20% 乙醇溶液(含乙酸铵 40 mmol/L) 洗脱载样后的反相色谱树脂柱, 洗脱液体积为 3 BV。然后用 pH 4.0 的 50% 乙醇溶液(含乙酸铵 40 mmol/L) 进行洗脱, 洗脱剂流速为 0.5 BV/h。将反相色谱树脂(II) 柱的洗脱液分别收集(每份约 0.5 BV) 并准确记录其体积。按“2.1”项下色谱条件分别测定每份洗脱液中 **1** 的浓度和纯度, 计算不同洗脱液体积时的 **1** 累积洗脱回收率。合并混匀 **1** 纯度大于 99% 的反相色谱树脂(II) 柱洗脱液, 测定其中 **1** 的纯度。

累积洗脱回收率 - 洗脱液体积曲线如图 3 所示, 4 种反相色谱树脂的最终累积洗脱回收率均可达 90% 以上, XT-30 反相色谱树脂的最终累积洗脱回收率达 95.4%。当洗脱液体积为 4 BV 时, XT-30 反相色谱树脂柱的洗脱液中 **1** 的累积洗脱回收率达 87.1%, 优于 HP20SS、CG161 和 UniPS20 反相色谱树脂, 表明 XT-30 反相色谱树脂对 **1** 的纯化作用最强。各个反相色谱树脂柱的洗脱液合并液中 **1** 的纯度结果见表 3, XT-30 反相色谱树脂对 **1** 的纯化效果优于其他 3 种反相色谱树脂。综合考虑树脂载样量、累积洗脱回收率和对 **1** 的纯化效果, 选择 XT-30 作为第二步反相色谱树脂。

2.6 试验结果的验证

取发酵液 7 L(含 20 g 的 **1**), 发酵液经粗分离后 **1** 的纯度为 60.5% (图 4A); 经 LP20MM 反相色谱树脂(I) 纯化后, 可去除大部分杂质, 纯化后的 **1** 纯度为 87.1% (图 4B); 经 NM-Q 离子交换树脂纯化后, 相对保留时间为 0.88 的杂质含量明显减少(经鉴定该杂质为 **1** 的 β -异构体), 纯化后的 **1** 纯度达到了 94.8% (图 4C); 经 XT-30 反相色谱树脂(II) 纯化后, 相对保留时间为 0.88 和 1.32 的杂质含量显著降低(经鉴定相对保留时间 1.32 的杂质为脱水 **1**), 最终纯化后的 **1** 纯度达到了 99.3% (图 4D)。将纯化液进行冷冻干燥, 得到 11.5 g 的 **1**, 纯化总回收率为 57.5%。

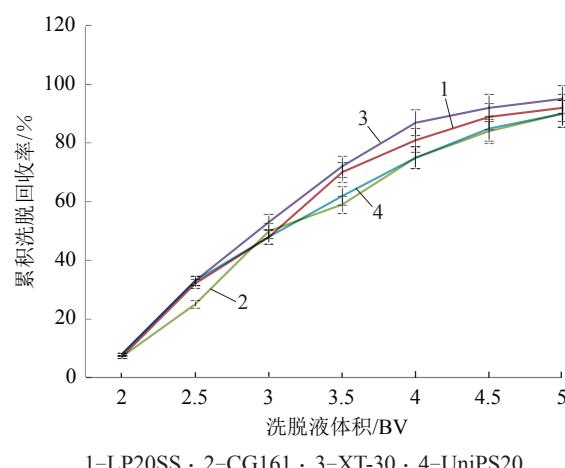


图 3 不同反相色谱树脂柱(II) **1** 的累积洗脱回收率曲线的比较

Fig.1 Comparison of Cumulative Elution Recovery Curves of **1** among Different Reversed-phase Chromatographic Resin Columns (II)

表 3 不同反相色谱树脂柱(II) 洗脱液合并液中 **1** 的纯度

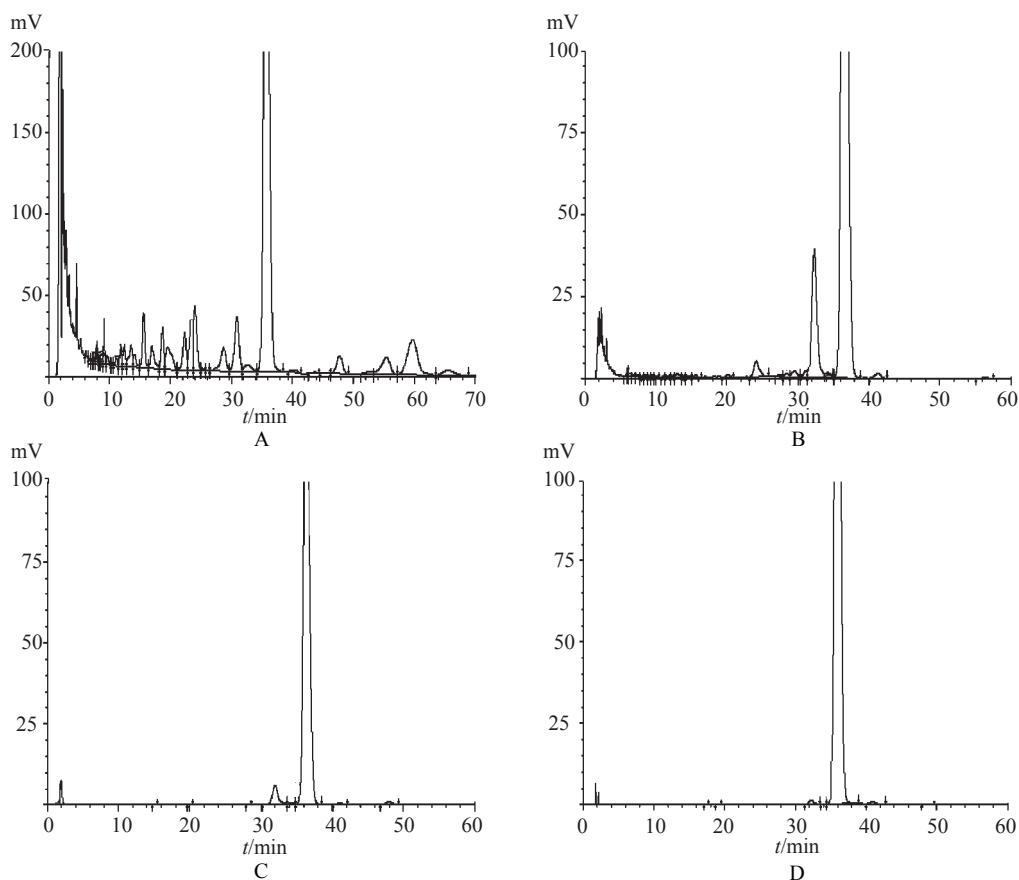
Tab.3 Purities of **1** in Combined Elution of Different Reversed-phase Chromatographic Resin Columns (II)

树脂型号	HP20SS	CG161	XT-30	UniPS20
上样液中 1 的纯度/%			92.5	
洗脱液合并液中 1 的纯度/%	99.1	99.1	99.7	99.4
纯化倍数	1.07	1.07	1.08	1.07

3 讨论

目前国外专利报道的 **1** 分离纯化方法主要是采用丁醇浸提或交替使用阴离子交换色谱、疏水相互作用色谱和阴离子交换色谱进行反复纯化, 这些方法操作复杂且生产成本高^[6]。国内报道的 **1** 分离纯化方法主要采用阴离子和 C₄ 反相硅胶复合物作为复合型反相硅胶柱进行纯化, 或采用阴离子树脂进行纯化, 均取得了一定的纯化效果, 但所得 **1** 的纯度较低^[7-8]。

本研究确定了 **1** 的分离纯化工艺: 依次采用 LP20MM 反相色谱树脂、NM-Q 离子交换树脂和 XT-30 反相色谱树脂进行分离纯化。最佳工艺参数为: LP20MM 反相色谱树脂柱, 上样液 pH 7.0, 流速为 0.8 BV/h, 用 pH 7.0 的 10% 乙腈溶液以 0.8 BV/h 的流速洗脱; NM-Q 离子交换树脂柱, 上样液 pH 7.5, 流速为 1 BV/h, 用 10 g/L 的氯化钠溶



A : 粗分离液, B : LP20MM 纯化液, C : NM-Q 纯化液, D : XT-30 纯化液

图4 纯化过程的色谱图

Fig.4 Chromatograms of the Purification Process

液以 1 BV/h 的流速洗脱 ; XT-30 反相色谱树脂柱 , 上样液 pH 4.8, 流速 0.5 BV/h, 用 pH 4.0 的 50% 乙醇溶液 (含乙酸铵 40mmol/L) 以 0.5 BV/h 的流速洗脱。经过 3 步分离纯化工序 , **1** 的纯度达到 99.3%, 纯化总回收率为 57.5% 。该纯化工艺操作流程简单 , 洗脱质量好 , 显著提高了 **1** 的纯度 , 为制备高纯度的 **1** 提供参考。

参考文献:

- [1] 郭朝江, 王相金, 王化民. 玫瑰孢链霉菌补料分批发酵生产达托霉素的动力学模型 [J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(4): 241-252.
- [2] AYLOR S D, PALMER M. The action mechanism of daptomycin [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2016, 24(24): 6253-6268.
- [3] NAMTU K C, CRAIN J C, MESSINA A F, et al. Clinical experience with daptomycin in pediatrics [J]. *Pharmacother*, 2017, 37(1): 105-108.
- [4] BALLI E P, VENETIS C A, MIYAKIS S. Systematic review and meta-analysis of linezolid versus daptomycin for treatment of vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(2): 734-739.
- [5] MUANGSIRI W, KIRSCH L E. The kinetics of the alkaline degradation of daptomycin [J]. *J Pharma Sci*, 2001, 90(8): 1066-1075.
- [6] KELLEHER T J, LAI J J, DECOUREY J P, et al. Process for the purification of daptomycin: EP, 1586580B1 [P]. 2009-11-25.
- [7] 朱 辉, 韩晓彤, 邹敬源, 等. 一种高纯度达托霉素 (Daptomycin) 的纯化制备方法: 中国, 200910058577 [P]. 2010-09-15.
- [8] 王泽根, 王文轶, 吴 曼, 等. 阴离子交换树脂对 *Streptomyces roseosporus* 发酵液中达托霉素的分离纯化研究 [J]. 药学与临床研究, 2011, 19(4): 318-321.