



Copyright (c) 2025 Serhii Levchenko, Antonina Kustovska, Vitalii Chumak, Olena Matvyeyeva, Ihor Trofimov, Yevhenii Hetmanskyi

Ця робота ліцензується відповідно до [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) / This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

**Сергій Левченко, Антоніна Кустовська, Віталій Чумак, Олена Матвєєва,
Ігор Трофімов, Євгеній Гетманський**

**СИНТЕЗ ТА ОЧИЩЕННЯ ПОЛІМІКСИН В СУЛЬФАТУ:
ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ТА СУЧАСНІ ПІДХОДИ**



**Serhii Levchenko, Antonina Kustovska, Vitalii Chumak, Olena Matvyeyeva,
Ihor Trofimov, Yevhenii Hetmanskyi**

**SYNTHESIS AND PURIFICATION OF POLYMYXIN B SULFATE:
TECHNOLOGICAL ASPECTS AND MODERN APPROACHES**

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Метою дослідження є узагальнення сучасних підходів до синтезу та очищення поліміксину В сульфату з урахуванням біотехнологічних, хроматографічних і мембранних методів, а також визначення оптимальних технологічних рішень для підвищення виходу, ізомерної чистоти та фармацевтичної стабільності препарату. Особливу увагу приділено аналізу процесів нерибосомального біосинтезу, параметрів ферментації та багатоетапній системі очищення поліміксину.

Методологія. У роботі використано методи аналізу, синтезу та систематизації наукових джерел, що описують промислові процеси виробництва поліпептидних антибіотиків. Опрацьовано патентні та нормативні матеріали щодо біосинтезу, очищення й контролю якості поліміксину В. Проведено порівняння адсорбційних, іоннообмінних, гель-фільтраційних і високоефективних рідинно-хроматографічних технологій очищення, а також проаналізовано можливості інтеграції мембранних процесів (ультра- та нанофільтрації) для підвищення чистоти продукту та видалення ендотоксинів.

Наукова новизна. Робота узагальнює сучасні підходи до генетичної оптимізації штамів *Paenibacillus polymyxa*, впливу fed-batch режимів ферментації та використання прекурсорів на підвищення активних ізомерів B1 і B2. Запропоновано каскадну схему очищення, що поєднує мембранні, сорбційні та RP-HPLC етапи, забезпечуючи досягнення фармакопейної чистоти.

Висновки. Ефективне виробництво поліміксину В сульфату вимагає поєднання біотехнологічних і фізико-хімічних методів. Генетичне вдосконалення штамів *P. polymyxa*, оптимізація параметрів ферментації та застосування мембранних технологій сприяють підвищенню виходу й чистоти продукту. Подальші дослідження, спрямовані на зниження токсичності та вдосконалення процесів очищення, відкривають перспективи створення нових безпечних терапевтичних форм антибіотика.

Ключові слова: поліміксин В сульфат, *Paenibacillus polymyxa*, біосинтез, очищення, іонообмінна хроматографія, ендотоксини

ABSTRACT

Purpose of the work. The purpose of the study is to summarize modern approaches to the synthesis and purification of polymyxin B sulfate, taking into account biotechnological, chromatographic, and membrane methods, as well as to determine the optimal technological solutions for increasing the yield, isomeric purity, and pharmaceutical stability of the drug. Particular attention is paid to the analysis of non-ribosomal biosynthesis processes, fermentation parameters, and a multi-stage polymyxin purification system.

Methodology. The work uses methods of analysis, synthesis, and systematization of scientific sources describing industrial processes for the production of polypeptide antibiotics. Patent and regulatory materials on the biosynthesis, purification, and quality control of polymyxin B were studied. A comparison of adsorption, ion exchange, gel filtration, and high-efficiency liquid chromatography purification technologies was carried out, and the possibilities of integrating membrane processes (ultra- and nanofiltration) to improve product purity and remove endotoxins were analyzed.

Scientific novelty. The work summarizes modern approaches to genetic optimization of *Paenibacillus polymyxa* strains, the influence of fed-batch fermentation modes, and the use of precursors to increase the active isomers B1 and B2. A cascade purification scheme is proposed, combining membrane, sorption, and RP-HPLC stages, ensuring the achievement of pharmacopoeial purity.

Conclusions. Effective production of polymyxin B sulfate requires a combination of biotechnological and physicochemical methods. Genetic improvement of *P. polymyxa* strains, optimization of fermentation parameters, and the use of membrane technologies contribute to increased product yield and purity. Further research aimed at reducing toxicity and improving purification processes opens up prospects for the creation of new safe therapeutic forms of the antibiotic.

Key words: polymyxin B sulfate, *Paenibacillus polymyxa*, biosynthesis, purification, ion-exchange chromatography

Вступ

Антибіотикорезистентність визнана Всесвітньою організацією охорони здоров'я однією з головних загроз глобальній безпеці здоров'я (WHO, 2014). Поширення мультирезистентних грамнегативних патогенів, таких як *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, знижує ефективність лікування інфекцій, особливо у відділеннях інтенсивної терапії (Alshammari et al., 2025; Tamma et al., 2019; Tacconelli et al., 2018). У цих умовах значно зростає інтерес до поліміксинів, зокрема поліміксину В, який знову повернувся у клінічну практику як «антибіотик останньої лінії» (Landman et al., 2008; Yu et al., 2015).

Поліміксин В є циклічним катіонним ліпопептидом, що продукується ґрунтовими бактеріями *Paenibacillus polymyxa* шляхом нерибосомного синтезу пептидів. Механізм його дії полягає у зв'язуванні з ліпополісахаридами зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій, що призводить до порушення мембранної цілісності та загибелі клітини. Попри високу активність, застосування препарату пов'язане з ризиком нефро- та нейротоксичності, що зумовлює необхідність особливо ретельного контролю чистоти продукту (Nation et al., 2015).

Виробництво поліміксину В сульфату – це складний біотехнологічний процес, який включає стадії мікробіологічного синтезу та багатоступеневого очищення. Біосинтез здійснюється у ферментерах об'ємом від лабораторних 10–20 л до промислових понад 10 000 л з використанням живильних середовищ, оптимізованих за карбоновим і нітрогеновмісним складом. Параметри ферментації – рН, температура, аерація, швидкість перемішування – визначають не лише вихід цільового продукту, а й співвідношення різних компонентів суміші поліміксинів (Process for production and purification of polymyxin B sulfate, 2010). Для підвищення продуктивності застосовують стратегії прекурсорної підгодовлі амінокислотами, зокрема L-діамінобутиратом і L-лейцином (Hui-Zhong et al., 2024).

Після ферментації поліміксин В перебуває у бульйоні разом з білками, полісахаридами, клітинним детритом та вторинними метаболітами. Технологічна схема зазвичай включає комплексне очищення. Особливу увагу приділяють видаленню ендотоксинів, що визначає безпечність препарату при парентеральному застосуванні.

Таким чином, дослідження технологічних аспектів синтезу та очищення поліміксину В сульфату має як теоретичне, так і прикладне значення. Воно сприяє оптимізації виробництва, підвищенню виходу та якості продукту, зменшенню впливу на довкілля та забезпеченню стабільного постачання критично важливого антибіотика.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використано методи системного та порівняльного аналізу для узагальнення сучасних технологічних підходів до біосинтезу та очищення поліміксину В сульфату, описаних у фаховій літературі та нормативно-технічних документах.

Основними матеріалами дослідження стали наукові статті з рецензованих міжнародних журналів, що висвітлюють біотехнологічні аспекти синтезу поліміксину, які були знайдені з використанням пошукової системи Google Scholar; патентні описи технологічних процесів біосинтезу та хімічної модифікації поліпептидних антибіотиків; технічні регламенти та методичні рекомендації з очищення біотехнологічних продуктів та рекомендації з контролю якості лікарських засобів; огляди щодо метаболічної інженерії *Paenibacillus polymyxa* та оптимізації живильних середовищ для підвищення виходу цільового продукту.

Результати дослідження та обговорення

Поліміксин В має структуру, яка складається з 10 амінокислот з ліпідною хвостовою ділянкою, яка надає амфіпатичні властивості. Результатом його синтезу є суміш структурних компонентів в якій найбільшу частку складають поліміксини В1 і В2. На рис. 1. наведена структура поліміксину В1 (Vaara, 2019).

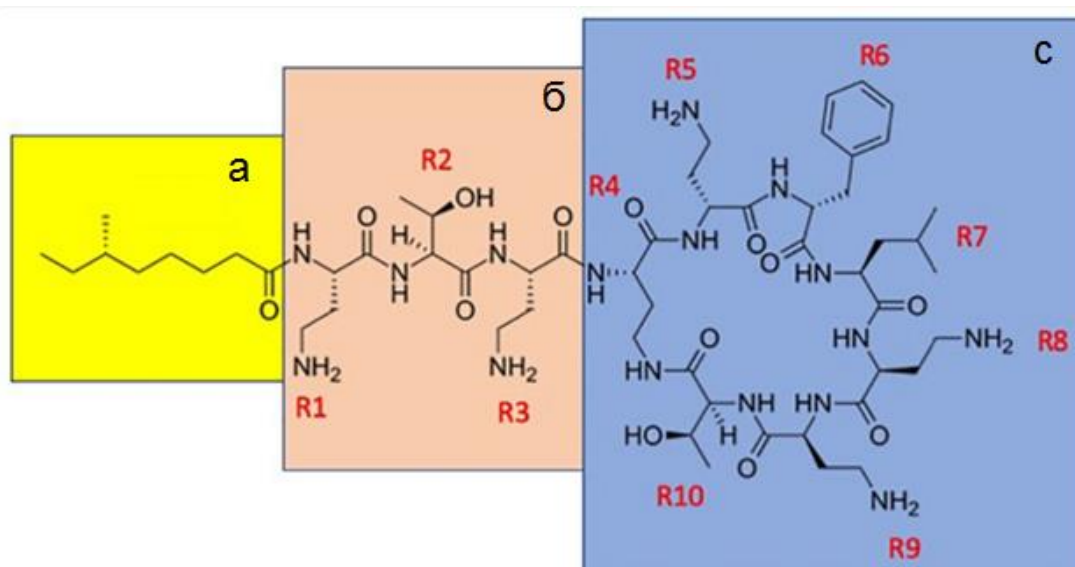


Рис. 1. Структура поліміксину В1. Жирний ацильний хвіст виділено (а), лінійна частина (б), а циклічна гептапептидна частина (с)

Різниця поліміксинів В1 та В2 полягає в довжині жирнокислотного ланцюга (поліміксин В1 має на одну групу CH_2 більше). Оскільки поліміксин В є сумішшю близьких ізомерів (В1, В2 та ін.), технологія отримання передбачає не тільки високий вихід

біосинтезу, але й багатоступінчасте, селективне очищення для досягнення фармакопейної якості (Ravindra Krishnarao et al., 2025). Стадії одержання поліміксину В наведені на рисунку 2.

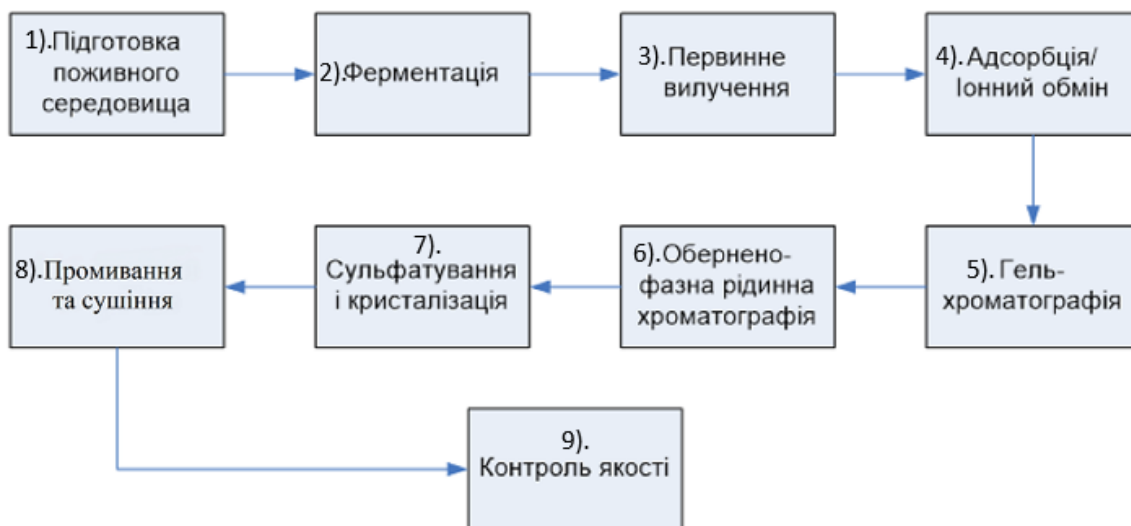


Рис. 2. Стадії синтезу поліміксину В

На першій стадії відбувається підготовка поживного середовища. Поживне середовище синтезу поліміксину В містить джерела карбону (глюкоза, крохмаль), нітрогену (соеве борошно, амонійні солі), мінеральні компоненти (фосфати, сульфати Mg і Fe). Оптимальний баланс компонентів

впливає на активність ферментації та рівень синтезу антибіотика (US20090197305A1, 2009; EP2027280A1, 2009). На другій стадії відбувається біологічний синтез (ферментація). Біологічний синтез поліміксинів каталізують комплекси нерибосомальних пептидсинтетаз (NRPS). NRPS-механізм забезпечує модуль-

ний відбір амінокислот, їх активацію та послідовний синтез пептидного ланцюга з подальшою циклізацією. На рисунку 3 наведена загальна схема біосинтезу поліміксинів. Поліміксини синтезуються за допомогою нерибосомальних пептидсинтетаз у грампозитивних бактерій, зокрема

Paenibacillus polymyxa. Подібно до інших нерибосомальних систем, утворення поліміксинів відбувається за участі багатомодульних синтетаз, де кожен модуль містить набір ферментативних доменів, що послідовно діють на зростаючий пептидний ланцюг.

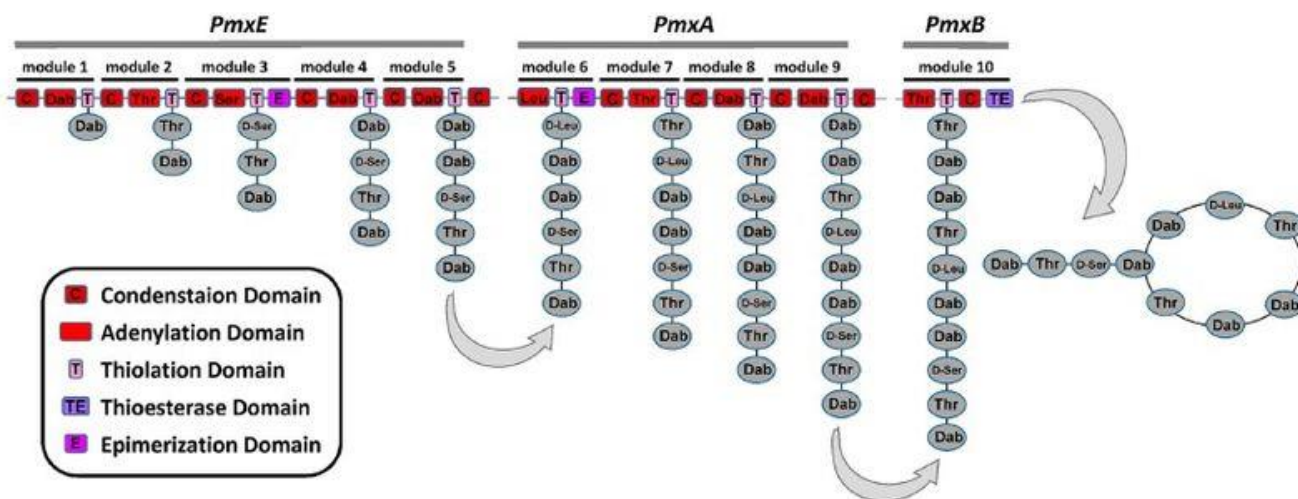


Рис. 3. Біосинтез поліміксину, який полягає у створенні поліпептидного ланцюга з подальшою циклізацією

Ці домени забезпечують приєднання амінокислотних залишків, подовження ланцюга, а також утворення пептидного зв'язку шляхом реакцій конденсації. На завершальному етапі до структури приєднується тїоестеразний домен, розташований на С-кінці останнього модуля, який каталізує циклізацію молекули та її вивільнення з ферментного комплексу.

Фундаментальні принципи NRPS і структурно-функціональні зв'язки поліміксинів описані в нещодавніх оглядах (Slingerland & Martin, 2024). Для синтезу промислово використовують штами *P. Polymyxa* або родинні продуценти; оптимізація штаму (відбір/селекція, генетичне інжиніринг) підвищує частку бажаних ізомерів і загальний вихід. Генетична оптимізація поліміксинів базується на методі CRISPR-Cas9 редагування геному який полягає у видаленні окремих генів або великих ділянок, вставки. Особливо модифікація генної структури, що відповідає за синтез екзополісахаридів. Інший метод оптимізації це мутації в генах поліміксинового кластеру (*pmxC*, *pmxD*, *pmxE*) у *P. polymyxa* PKB1, який полягає у редагуванні геному, що дозволило отримати нові варіанти поліміксину В. Це допомогло з'ясувати роль окремих генів у

біосинтезі та створити потенційно менш токсичні або активніші форми антибіотика.

Глибока аеробна ферментація відбувається у реакторах зі стандартними умовами контролю: температура 28–32 °C, pH близько 6.0–7.0 (регулюється буферними системами), інтенсивна аерація і перемішування проводяться для підтримки концентрації розчиненого кисню на необхідному рівні. Ферментація проводиться протягом 48–72 години; за лабораторними й пілотними даними виходи у діапазоні ~1.8–3.0 г/л за оптимальних умов. Оптимізація включає також контроль співвідношення C:N, режимів підживлення (*fed-batch*) та застосування предкурсорної збагачення амінокислотами або ліпідами для підвищення частки певних ізомерів. Для оптимізації процесу синтезу поліміксину В використовується режим ферментації *fed-batch* сутність якого полягає у поступовому додаванні поживних речовин в процесі ферментації. Цей режим є одним із найефективніших режимів для виробництва поліміксину В у промислових умовах. *Fed-batch* ферментація забезпечує вищий вихід поліміксину В та запобігає репресії синтезу антибіотика, однак потребує точного контролю подачі субстратів і є технологічно

складнішою у реалізації (Hui-Zhong et al., 2024; Chen et al., 2024).

Після завершення ферментації критичною є ефективна первинна сепарація клітин та кускових домішок (стадія 3). Вона включає відстоювання, центрифугування високої пропускної здатності або мікрофільтрація/ультрафільтрація в залежності від режиму виробництва. Оскільки поліміксин виявляється в культуральному бульйоні переважно у розчиненому стані й частково асоціює з колоїдним матеріалом, попередня фільтрація та/або нормалізація складу (рН, електролітів) підвищують ефективність наступних етапів очищення. Високопродуктивні лінії часто використовують поєднання мікрофільтрації для відділення клітин і реконцентрації через зворотний осмос/нанофільтрацію для зниження об'єму.

Концепція багатоступінчастого очищення включає стадії 4-7 (рис. 2). Через амфіфільність молекули, близькість ізомерів і наявність пептидних домішок, очищення поліміксину В передбачає інтегровану каскадну схему, що умовно поділяється на: сорбційно-адсорбційні та іоннообмінні стадії (стадія 4); фракціонування за розміром (гелево-проникна хроматографія/Sephadex) (стадія 5); високороздільна хроматографія (обернена фаза, C18) для остаточного розділення й ізомерного очищення (стадія 6); кристалізація у формі сульфату й ліофілізація (стадія 7). Кожна стадія має свою роль у видаленні різних класів домішок (білки, полісахариди, органічні кислоти, малі солі, ендотоксини) (Saraswat et al., 2013; Cytiva, 2020; Cytiva, 2021).

На стадії 4 іоннообмінні колонки (катионіти/аніоніти) застосовують для вилучення поліміксину на основі його іонних властивостей (катионний характер при $\text{pH} < \text{pI}$ – ізоелектричної точки). Адсорбція на макропористих полістирольних смолах (XAD-тип) є універсальним кроком для попереднього видалення гідрофобних домішок і концентрації ліганду перед десорбцією етанолом або слабкими кислотами. Іонний характер поліміксину дозволяє ефективно елювати його при зміні рН або іонної сили; методи іонної хроматографії детально описані у роботах (University of North Carolina at Chapel Hill, Sondek Laboratory, 2018).

На стадії 5 Sephadex-гелі/гель-фільтраційні техніки (GF) використовують для упорядкування за розміром: видалення низькомолекулярних солей, розділення середніх пептидів і відокремлення основної фракції поліміксину від високомолекулярних забруднень. Це додатковий етап для розділення біомолекул, що добре поєднується з попередньою адсорбцією (Cytiva, 2020; Cytiva, 2021).

Фінальна стадія розділення ізомерів та отримання фармакопейної чистоти (стадія 6) реалізується на колонках C18 із водно-органічними градієнтами (ацетонітрил/вода або метанол/вода) з додаванням трифторетанової або метанової кислоти для оптимізації піків. Цей крок надає можливість повністю розділити B1/B2 та інші споріднені компоненти; Цей метод також використовується для аналітичної стандартизації та визначення біологічної активності фракцій (Cytiva, 2021).

Для стабілізації та приведення продукту у фармацевтичну форму проводять сульфатування (утворення поліміксину В сульфату) (стадія 7). Поліміксин переводять у сульфатну сіль (рН 5–7), після чого здійснюють кристалізацію та осадження. Це забезпечує стабільність та дозованість препарату (US20190256557A1, 2019; CN103130876B, 2014).

Після відокремлення кристалів виконують промивання холодними розчинниками (етанол/вода) і висушування – зазвичай ліофілізацію або вакуумне сушіння при температурі $\leq 40^\circ\text{C}$, щоб уникнути термічної деградації (стадія 8). Готовий сульфатний кристал характеризується високою водорозчинністю та зручністю дозування (US20190256557A1, 2019).

Контроль кінцевої субстанції (стадія 9) включає кількісне визначення загальної біологічної активності, співвідношення ізомерів (B1/B2), вміст домішок (максимум допустимі значення, зазвичай $\leq 15\text{--}17\%$ сумарно), залишкові розчинники, мікробіологічні показники та рівні ендотоксинів. Методики аналітичного контролю – HPLC (RP), мас-спектрометрія (LC-MS), UV-спектроскопія ($\lambda \approx 215\text{--}220\text{ nm}$ для пептидного скелета), біоактивність у тестах інгібування росту – відповідають фармакопейним стандартам і вимогам регламенту ДФУ, гармонізована з Ph. Eur. (HPLC (RP)) – розділ

2.2.29 – розділ «Рідинна хроматографія»; мас-спектрометрія (LC-MS) – 2.2.43 – розділ «мас-спектрометрія»; UV-спектроскопія – 2.2.25 – розділ «Спектрофотометрія в УФ і видимій області»; біоактивність – 2.7.2 – розділ «Мікробіологічне визначення активності антибіотиків»). Видалення ендотоксинів – окреме завдання, що вирішується комбінацією хроматографічних методів і специфічних адсорбентів (Sandle, 2022; Aslan et al., 2022).

Аналіз технології виробництва поліміксину дозволив виявити технічні виклики у виробництві та визначити шляхи оптимізації. Наявна технологія дозволяє одержати продукт неоднорідного складу. Суміш ізомерів вимагає глибокого розділення з використанням каскадної схеми, що підвищує собівартість. Рішенням проблеми може стати селекція або молекулярний інжиніринг штамів для підвищення частки бажаного ізомеру; напівсинтетичні підходи для перетворення суміші в більш однорідні (Chen et al., 2024). Процес синтезу супроводжується втратами частини продукту на ділянках обладнанні і використаних сорбентах – поліміксин адсорбується на полімерних і металевих поверхнях. Зменшення втрат продукту можливо за рахунок використання матеріалів (тугоплавкі покриття, PTFE) і оптимізацією часу контакту. Суттєвою проблемою є видалення ендотоксинів, що є критичним для парентеральних продуктів. При цьому комбіновані підходи (іонообмін, афініт-сорбенти, спеціалізовані колонки) показують найкращий результат. Ефективною може бути інтеграція мембранних процесів – застосування мікро/ультра/нанофільтрації у ланцюжку дозволяє зменшити залучення хроматографії та відповідні втрати продукту, а також підвищити пропускну здатність одержаного продукту (CN103130876B, 2014).

Поліміксин В має високі бактерицидні властивості, але його застосування обмежене нефро- і нейротоксичністю; це спонукає до необхідного контролю дози, моніторингу токсичності та пошуку безпечніших аналогів. Після парентерального введення він швидко розподіляється у позаклітинній рідині, істотну роль відіграє ниркова екскреція; період напіввиведення в людини зазвичай 6–12 годин, але значно

варіює за станом нирок. Детальні огляди та клінічні дослідження підтверджують фактори ризику нефротоксичності та шляхи її мінімізації (Özkarakaş et al., 2023; Chang et al., 2022; Xia et al., 2023; Wu et al., 2022).

Через токсичність оригінальних поліміксинів інтенсивно розробляють нові молекули: PMBN (деацильований нонапептид), синтетичні аналоги та «поліміксиноподібні» сполуки (SPR206, QPX9003 та ін.), що демонструють зменшену нефро- і нейротоксичність при збереженні ад'ювантної здатності або прямої активності. Ці нові сполуки також вимагають адаптованих методів очищення через відмінний профіль фізико-хімічних властивостей (Aslan et al., 2022).

Висновки

Виробництво поліміксину В сульфату є складним, багатоступінчастим біотехнологічним процесом, що поєднує високо-специфічну стадію мікробіологічного синтезу (ферментації) з ретельно спроектованою схемою очищення.

На етапі ферментації ключовим є забезпечення максимальної продуктивності та селективності синтезу, що досягається завдяки генетичному вдосконаленню штамів *Paenibacillus polymyxa*, оптимізації карбоно-нітрогенового балансу живильного середовища та використанню прекурсорної підживлення для зсуву ізомерного складу в бік терапевтично більш активних компонентів.

Головними технологічними викликами залишаються неоднорідність продукту внаслідок утворення суміші близьких ізомерів; наявність домішок білкової, вуглеводної та ліпідної природи; значні втрати цільового продукту під час кожної стадії очищення; необхідність повного видалення ендотоксинів для забезпечення безпечності при парентеральному застосуванні.

Ефективні шляхи подолання цих проблем включають селекцію та генетичну оптимізацію виробничих штамів для зменшення утворення небажаних ізомерів; застосування мембранних технологій (ультра- та нанофільтрація) як попередніх або допоміжних стадій; впровадження нових селективних сорбентів з підвищеною ємністю та стабільністю; розробку оптимізованих хроматографічних режимів для зменшення

кількості циклів та підвищення виходу одержаного продукту.

Перспективи розвитку галузі виходять за межі лише вдосконалення класичних технологій. Наразі активні дослідження спрямовані на створення менш токсичних аналогів поліміксину В (наприклад, за рахунок модифікації бічних ланцюгів або

заміни амінокислот), що потенційно дозволить знизити нефротоксичність і нейротоксичність препарату. Такі зміни можуть істотно вплинути на вимоги до технологічних процесів, зокрема спростити окремі стадії очищення, зменшити кількість ізомерних фракцій та поліпшити показники безпечності кінцевого лікарського засобу.

Фінансування / Funding

Зовнішнього фінансування немає / There is no external funding.

Заява про доступність даних / Data Availability Statement

Усі дані представлені безпосередньо у статті. Для отримання додаткової інформації звертайтеся до авторів / All data are presented directly in the article. For more information, please contact the authors.

Заява інституційної ревізійної ради / Institutional Review Board Statement

Не застосовується / Not applicable.

Заява про інформовану згоду / Informed Consent Statement

Не застосовується / Not applicable.

Конфлікт інтересів / Conflict of interest

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів / The authors declare no conflict of interest.

Декларація про генеративний штучний інтелект і технології на основі штучного інтелекту в процесі написання / Declaration on Generative Artificial Intelligence and AI-enabled Technologies in the Writing Process

Під час підготовки цього рукопису автори використовували ChatGPT для пошуку літературних джерел з даної тематики, які перевірялись через пошукову систему Google Scholar. Після застосування цього інструменту автори ретельно переглянули та відредагували вміст за необхідності і несуть повну відповідальність за остаточну опубліковану версію / During the preparation of this manuscript, the authors used ChatGPT to search for literature sources on the subject, which were checked through the Google Scholar search engine. After using this tool, the authors carefully reviewed and edited the content as necessary and bear full responsibility for the final published version.

References

- Alshammari, A.D., Salem, A.M., Almarshedy, S.M., Rakha, E., & Saleem, M. (2025). Multidrug-resistant gram-negative bacteria in ICU patients of a tertiary care hospital in Saudi Arabia: Distribution of carbapenemase genes in clinical and rectal swab samples. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 398, 14175–14188. <https://doi.org/10.1007/s00210-025-04194-9>
- Aslan, A. T., Akova, M., & Paterson, D. L. (2022). Next-generation polymyxin class of antibiotics: A ray of hope illuminating a dark road. *Antibiotics (Basel)*, 11(12), 1711. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121711>
- Chang, K., Wang, H., Zhao, J., Yang, X., Wu, B., Sun, W., Huang, M., Cheng, Z., Chen, H., Song, Y., Chen, P., Chen, X., Gan, X., Ma, W., Xing, L., Wang, Y., & Cao, B. (2022). Risk factors for polymyxin B-associated acute kidney injury: A multicenter study. *International Journal of Infectious Diseases*, 117, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.01.055>

Chen, N., Cai, P., Zhang, D., Zhang, J., Zhong, Z., & Li, Y. X. (2024). Metabolic engineering of "last-line antibiotic" colistin in *Paenibacillus polymyxa*. *Metabolic Engineering*, 85, 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2024.07.005>

CN103130876B. (2014). *Preparing method of high-purity polymyxin B*. <https://patents.google.com/patent/CN103130876B/en>

Cytiva. (2020). *Sephadex ion exchange resins*. Marlborough, MA: Cytiva. <https://cdn.cytivalifesciences.com/api/public/content/digi-11385-original>

Cytiva. (2021). *Protein and peptide purification*. Marlborough, MA: Cytiva. <https://cdn.cytivalifesciences.com.cn/api/public/content/digi-11852-pdf>

EP2027280A1. (2009). *Process for the preparation of polymyxin B employing (Paeni)bacillus polymyxa*. <https://patents.google.com/patent/EP2027280A1/en>

Hui-Zhong, S., Si-Yu, W., Qiu-Man, X., Shang, W., Li, Q., Cheng, J.-S., & Yuan, Y.-J. (2024). Enhancement of polymyxin B1 production by an artificial microbial consortium of *Paenibacillus polymyxa* and recombinant *Corynebacterium glutamicum* producing precursor amino acids. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 9(1), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2024.01.015>

Landman, D., Georgescu, C., Martin, D. A., & Quale, J. (2008). Polymyxins revisited. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 449–465. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-08>

Nation, R. L., Li, J., Cars, O., Couet, W., Dudley, M. N., Kaye, K. S., Mouton, J. W., Tam, V. H., Theuretzbacher, U., Tsuji, B. T., & Zavascki, A. P. (2015). Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: The Prato polymyxin consensus. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(2), 225–234. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70850-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70850-3)

Özkarakaş, H., Özdemir, Y., Tosun, S., Zeki T. Tekgül, Mehmet U. Bilgin, Ozkan Özmuk, Bülent Çalık. (2023). Risks of polymyxin B nephrotoxicity and its precursors in the intensive care unit: A retrospective cohort study. *Cureus*, 15(8), e44301. <https://doi.org/10.7759/cureus.44301>

Process for production and purification of polymyxin B sulfate. (2010, May 27). *WO 2010/058427A2*. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2010058427>

Ravindra Krishnarao, B., Chaturvedi, A., & Karunasagar, K. M. (2025). Separation, purification and isolation of polymyxin B sulphate. *Biotechnology Journals*, 7(2). <https://www.biotechnologyjournals.com/assets/archives/2025/vol7issue2/7021.pdf>

Sandle, T. (2022). Development and qualification factors for endotoxin removal from proteins using chromatographic columns. *American Pharmaceutical Review*. <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/589105-Development-and-Qualification-Factors-for-Endotoxin-Removal-from-Proteins-Using-Chromatographic-Columns/>

Saraswat, M., Musante, L., Ravidá, A., Shortt, B., Byrne, B., & Holthofer, H. (2013). Preparative purification of recombinant proteins: Current status and future trends. *BioMed Research International*, 2013, 312709. <https://doi.org/10.1155/2013/312709>

Slingerland, C. J., & Martin, N. I. (2024). Recent advances in the development of polymyxin antibiotics: 2010–2023. *ACS Infectious Diseases*, 10(4), 1056–1079. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.3c00630>

Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., & Monnet, D.L. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria

and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)

Tamma, P. D., Cosgrove, S. E., & Maragakis, L. L. (2019). Combination therapy for treatment of infections with gram-negative bacteria. *Frontiers in Medicine*, 6, Article 74. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00074>

University of North Carolina at Chapel Hill, Sondek Laboratory. (2018). Ion exchange chromatography & chromatofocusing [PDF]. Chapel Hill, NC. <https://www.med.unc.edu/pharm/sondeklab/wp-content/uploads/sites/868/2018/10/Ion-exchange.pdf>

US20090197305A1. (2009). *Method for producing polymyxin B by fermentation*. <https://patents.google.com/patent/US20090197305A1/en>

US20190256557A1. (2019). *Polymyxin B sulfate crystal and preparation method thereof*. <https://patents.google.com/patent/US20190256557A1/en>

Vaara, M. (2019). Polymyxins and their potential next generation as therapeutic antibiotics. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1689. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01689>

WHO. (2014). *Antimicrobial resistance: Global report on surveillance*. Geneva: World Health Organization.

Wu, X.-L., Long, W.-M., Lu, Q., Teng, X.-Q., Qi, T.-T., Qu, Q., He, G.-F., & Qu, J. (2022). Polymyxin B-associated nephrotoxicity and its predictors: A retrospective study in carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections. *Frontiers in Pharmacology: Renal Pharmacology*, 13, 672543. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.672543>

Xia, G. L., Xu, X., You, X. B., Wang, X., Feng, D. D., Lei, S., & Jiang, R. L. (2023). Efficacy and nephrotoxicity of polymyxin B in elderly patients with carbapenem-resistant organism infection. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 22, 101. <https://doi.org/10.1186/s12941-023-00647-2>

Yu, Z., Qin, W., Lin, J., Fang, S., & Qiu, J. (2015). Antibacterial mechanisms of polymyxin and bacterial resistance. *BioMed Research International*, 2015, 679109. <https://doi.org/10.1155/2015/679109>

Received: 12.09.2025. **Accepted:** 23.10.2025. **Published:** 16.12.2025.

Ви можете цитувати цю статтю так:

Левченко С., Кустовська А., Чумак В., Матвєєва О., Трофімов І., Гетманський Є. Синтез та очищення поліміксин В сульфату: технологічні аспекти та сучасні підходи *Biota. Human. Technology*. 2025. № 3. С. 220–229. DOI: <https://doi.org/10.58407/bht.3.25.20>

Cite this article in APA style as:

Levchenko, S., Kustovska, A., Chumak, V., Matvyeyeva, O., Trofimov, I., & Hetmanskyi, Y. Syntez ta ochyshchennia polimiksyn B sul'fatu: tekhnolohichni aspekty ta suchasni pidkhody [Synthesis and purification of polymyxin B sulfate: technological aspects and modern approaches]. *Biota. Human. Technology*, (3), 220–229. <https://doi.org/10.58407/bht.3.25.20> (in Ukrainian)

Information about the authors:

Levchenko S. [*in Ukrainian: Левченко С.*] ¹, PhD (Technical Sciences), Associate Professor, email: serhii.levchenko@npp.kai.edu.ua

ORCID: 0009-0007-0406-6372

Department of Chemistry and Chemical Technology, State University "Kyiv Aviation Institute"

1, Liubomyra Huzara Avenue, Kyiv, 03058, Ukraine

Kustovska A. [*in Ukrainian: Кустовська А.*] ², PhD (Chemistry), Associate Professor, email: antonina.kustovska@npp.kai.edu.ua

ORCID: 0000-0002-6836-3305

Department of Chemistry and Chemical Technology, State University "Kyiv Aviation Institute"

1, Liubomyra Huzara Avenue, Kyiv, 03058, Ukraine

Chumak V. [*in Ukrainian: Чумак В.*] ³, D.Sc. (Chemistry), Professor, email: vitalii.chumak@npp.kai.edu.ua

ORCID: 0000-0002-1574-2862

Department of Chemistry and Chemical Technology, State University "Kyiv Aviation Institute"

1, Liubomyra Huzara Avenue, Kyiv, 03058, Ukraine

Matvyeyeva O. [*in Ukrainian: Матвеева О.*] ⁴, PhD (Technical Sciences), Professor, email: olena.matvyeyeva@npp.kai.edu.ua

ORCID: 0000-0001-7450-0479

Department of Chemistry and Chemical Technology, State University "Kyiv Aviation Institute"

1, Liubomyra Huzara Avenue, Kyiv, 03058, Ukraine

Trofimov I. [*in Ukrainian: Трофімов І.*] ⁵, PhD (Technical Sciences), Associate Professor,

email: ihor.trofimov@npp.kai.edu.ua

ORCID: 0000-0001-5539-1166

Department of Chemistry and Chemical Technology, State University "Kyiv Aviation Institute"

1, Liubomyra Huzara Avenue, Kyiv, 03058, Ukraine

Hetmanskyi Y. [*in Ukrainian: Гетманський Є.*] ⁶, 4th-year Student of Specialty 161 "Chemical Technologies of Pharmaceutical Production and Medical Devices", email: 7976746@stud.kai.edu.ua

ORCID: 0009-0008-0270-3937

Department of Chemistry and Chemical Technology, State University "Kyiv Aviation Institute"

1, Liubomyra Huzara Avenue, Kyiv, 03058, Ukraine

¹ Formulated the research concept, supervised the project, and provided methodological support.

² Carried out the experimental work and contributed to the analysis of results.

³ Provided scientific guidance, critical revision of the manuscript, and overall supervision.

⁴ Contributed to data interpretation, visualization, and improvement of the manuscript text.

⁵ Participated in designing the experiments, processing experimental data, and preparing tables and figures.

⁶ Performed part of the experimental research and participated in drafting the manuscript.