Лекция.

Производство антибиотиков. Схема производства пенициллина (пен.), стрептомицина (стр.), тетрациклина (тет.)

Егоров «Основы учения об антибиотиках»

Навашин «Производство антибиотиков»

Бекер «Биотехнология» стр 239

Антибиотики - специальные продукты ж/деятельности м/организмов и их модификации, которые обладают высокой физиол. Активностью по отношению к определенным группам м/орг.(вирусам, биктериям, грибам, водорослям) или к злокачественным опухолям. Нужны в очень малых концентрациях ( обладают высокой специфичностью). Используются в медицине, ветеринарии, с/х, пищевой промышленности как консерванты). Известно около 6000 а/биотиков, которые продуцируются грибами, стрептомицетами (50% а/б), бактериями. В мед.практике испольуются около 100 а/биот. Получают а/биот. путем химической или б/хим. трансформации. Возникают резистентные формы м/орг - нужны новые а/биот. Г+ - пенициллин, эритромицин. Г- тетрациклин, стрептомицин. Могут быть узкого спектра: бензилпен, повобиоцин; широкого спектра - тетрациклин и др. Пенициллин и ценфалоспорин - подавляют синтез клеточной стенки. Г- - пептидогликан - 5-10% от массы. Г+ - 50-90% пептидогликана, он образует многослойную структуру с поперечными сшивками. Пен действует на Г+ бактерии. Но не действует на Г- . Затруднен синтез пептидогликана. Нарушают мембранные функции и ингибирует синтез НК. А/биот-ки подавляют синтез белка: на рибосоме:

Тетрациклин ингибирует многоие металлоэнзимы. Не может проходить через мембрану эукариотической клетки. Большие затраты на научные исслед.( разработка а/биот).

Селекция более активного штамма.

П 5-20 мг/л стрептомицин

↓ мутации

* 20-25 г/л современный стрептомицин

Спонтан.мут.

Использование иммобилизированных клеток и ферментов - для интенсификации. Непрерывная ферментация ( а/биот относятся к вторичным метаболитам, их синтез начинается после лимитации роста продуцентов; клетки выросли). При с.П лимитирующем фактором явл. глюкоза При производстве некоторых а/биот-ков (стрептомицетами) - фосфаты.

Ферментация: аэробный процесс.

Vо2 = 0,3 - 1,5 мин -1.

Прост.рект. с механической мешалкой: V=30-200 м.куб.

Системы охлаждения и пеногашения. После ферментации б/массу отделяют на различных фильтрах.

Ферментация

↓

Фильтрация (экстракция, УФ, осаждение в виде нерастворимых соединений)

↓

Сушка (лиофильная) Сушка разными методами (лиофильная (сублимация льда в

↓ вакууме), либо распылительная)

Лекарственные формы (таблетирование, капсулирование)

Пенициллин: азотосодержащий гетероцикл.

Пенициллин (бензилпенициллин) и иммобилизатор - бентонит.

бП → 6-АПК (используют для синтеза).

Из химических свойств: пенициллинамидаза (катализирует верхнюю реакцию). Его гидролитический распад при pH >7, либо поддержание некоторых факторов.

Пенницилоиновая - неактивная дикарбоновая кислота (под действием пеницилллиназа).

Обладает склонностью к различным перегруппировкам. Приводит к образованию разных изомеров, которые ответственны за образование аллергии.Пенициллин получают методом глубинного культивирования .Интенсивный синтез пенициллина начинается после накопления большого количества биомассы-мицеллия.При использовании глюкозы и молочной кислоты в среде;рН нейтральный.Бензилпенициллин обр.из предщественников:фенилуксусная кислота

Подготовка к ферментации:сначало размножаются споры на пшене во флаконах при 25-27ОС в течении 4-5 суток. Полученным спровым матералом засевают инокуляторы, затем посевные аппараты (12-18 часов).

Ферментация.

Питательная среда: укурузный экстракт (2-3%),

глюкоза (2%) легко усваяемая лактоза - 1%

сульат аммония+фосфаты (0,5-1%)

производные ФУК - 0,3 - 0,6%

Для стабилизации рН - мел. Кашалотовый жир - пеногаситель, регулируе рН. Лактоза обеспечивает полноценный синтез а/биот. Её потребление начинается не сразу. Сначала фаза привыкания, накапливается фермент, способный её расщеплять.

При ферментации необходима строгая асептика (посторонняя м/флора продуцирует пенициллазу, инактивирует синтез).

Ферментация 100000 ед/мл.

↓

Фильтрация мицелий используется в животноводстве.

КЖ 3-6% СВ

минеральные в-ва 30-40% 15-30%пенициллина

Большое кол-во белка затпр. выб. пен.

Для удаленпия белка: 1) обрабатывают солями аллюминия, железа, цинка. 2) Используют коагуляцию с танином. 3) Термическая коагуляция (КЖ нагревают дл 65-70 град.)

Для очистки пенициллина используюи экстракцию. Он, как кислота, хорошо растворим в орг.растворителях, а в виде соли - в воде.

1. Пен экстрагирует бутилацетатом, рН=2. Температура 4 град. (перевод в орг. фазу)
2. Раствор карбоната натрия. РН=6,5-7 (перевод в воду 30-50 тыс.ед/мл)
3. Экстракция бутилацетатом 50-70 тыс. Ед/мл

Стадии выделения укристалл.солей 1) стадия обезвоживания путем охлаждения до минус 16-18 град с последующей фильтрацией льда. Удаление пигмента загрязнений - АУ. 2) Получ.концентрат 0,6М КОН. РН=6,5, активность 150-250 тыс. Усл.ед/мл. 3) Стерилизующая ф-ция и упаривание под вакуумом с добавлением бутанола (для смесей, кипящих при более низкой темп.)

Температура 16-25 гр.,вакуум 5-10 мм.рт.ст.

Калиевая соль пенициллина кристализуется. Ее фильтрат промывается бутанолом. Грануляция пасты и сушка в вакуум-сушильном шкафу при 75-80 град. И 10 мм.рт.ст.

Цефалоспарин ( -лактановый антибиотик).

Гидролиз →7 А цефалоспариновая к-та не дез-ся пенициллиназой.

Стрептомицин (аминогликозидный а/биот). 2 основные гуанидиновые группы. Легко образубт соли с миню кислотами: 3-Cl- гидрат. В медицине часто используют сернокислотную стрептомициновую соль. Сложный полисахарид. Углеводы не только образуют рост м/орг.,но и принимают участие в биосинтезе (глюкоза, крахмал, фруктоза...). Может расти на средах, содержащих белк.N: соевая мука, сухие дрожжи, жмыхи. Добавляются аммонийные соли, фосфор, который способствует усвоению углеводов. Посевной метериал сначала готовят в качалочных колбах, затем переносят в инокулят, затем в большой посевной аппарат, затем в ферментер (70 час). Питательная среда: глюкоза, кукурузнфй экстракт, азот, фосфор, цинк, марганец, магний, железо, аммонийные соли, мел. Аэрация, темп.26-28 град., перемешивание 7-8 суток.

2 фазы развитьия:

В трофофазе высокое потребление кислорода, растут клетки. Быстро потребляют питательные в-ва.