

Министерство образования и науки  
Российской Федерации

Санкт – Петербургский национальный исследовательский  
университет информационных технологий, механики и оптики  
Факультет пищевых биотехнологий и инженерии

# Производство антибиотика пенициллина



ВЫПОЛНИЛА СТУДЕНТКА  
ГРУППЫ Т4130: КОПЫЛОВА ТАТЬЯНА

## АНТИБИОТИКИ -

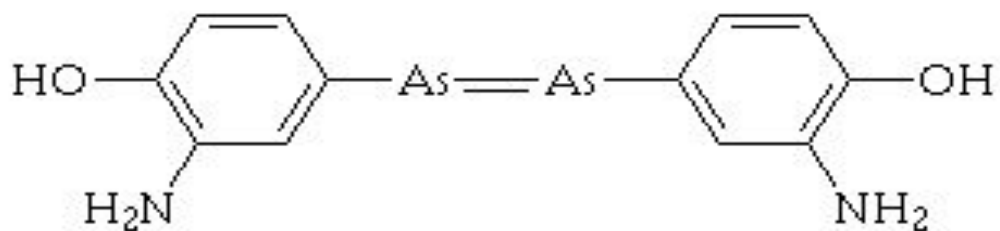
это совершенно особая группа лекарственных средств. Их уникальной особенностью является то, что они действуют непосредственно на причину заболевания и уничтожают ее. Однако вместе с тем, со временем их активность неизбежно снижается, что связано с формированием резистентности (устойчивости) к ним патогенной микрофлоры.

***Антибиотик*** — *вещество микробного, животного или растительного происхождения, способное подавлять рост определенных микроорганизмов или вызывать их гибель.*



# ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИБИОТИКОВ

Термин «антибиотик» предложил в 1942 г. Зельман Абрахам Ваксман для обозначения веществ, образуемых микроорганизмами и обладающих антимикробным действием. Разработка и производство **антибиотиков** активно началась в конце XIX века. Первым антибиотиком, выпущенным в промышленное производство, стал *сальварсан (1910 год)*.



Сальварсан



# ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ ПЕНИЦИЛЛИНА



**В 1928** году ученый **А. Флеминг** провел обычный опыт в ходе длительного исследования защиты организма человека от инфекционных заболеваний.

В 1938 г. двое ученых Оксфордского университета, Говард Флори и Эрнст Чейн выделили чистую форму пенициллина.

- ▣ **В 1945** Флеминг, Флори и Чейн получили **Нобелевскую премию** за свое открытие.

# ОТКРЫТИЕ ПЕНИЦИЛЛИНА



По данным Флеминг не отличался особой аккуратностью и не выбрасывал культуры по 2-3 недели, пока его лабораторный стол не оказывался загроможденным 40-50 чашками. Тогда он принимался за уборку, просматривал культуры одну за другой, чтобы не пропустить что-нибудь интересное.



В лаборатории Флеминга его ужаснейшим врагом была плесень. Обыкновенная зеленовато-серая плесень, которая берется неведомо откуда во влажных углах плохо проветриваемых помещений, покрывает несвежие продовольственные продукты, если их плохо хранят. Плесень — это не что иное, как микроскопический грибок, возникающий из еще меньших зародышей, тысячи которых носятся в воздухе. Как только зародыши попадают в благоприятную для них среду, начинают очень быстро разрастаться.

**Зинаида  
Виссарионовна  
Ермольева**

- женщина ученый,  
первая получила  
пенициллин в нашей  
стране и сумела  
организовать его  
широкое производство.



В нашей стране пенициллин был получен в 1942 году из плесени, собранной со стен бомбоубежища (Сталинская премия, 1943 г.)

Профессор З.В. Ермольева со своей сотрудницей Т.М. Балезиной выделили и подвергли изучению свыше 90 штаммов плесневых грибков и пришли к заключению, что наибольшей активностью обладает *Penicillium crustosum*.

Советский препарат был назван «пенициллин - крустозин». В 1943 году началось его промышленное производство. Советский штамм оказался более эффективным, чем западные аналоги.



## Это интересно

Плесень – это микроскопические грибы, которые живут на продуктах растительного и животного происхождения.

Еще в Древнем Египте инфекционные заболевания иногда лечили с помощью заплесневевшего хлеба. Поэтому именно египтян следует считать первопроходцами в использовании антибиотиков в лечебных целях.

Первыми в живой природе обнаружили лечебные свойства плесени муравьи. Они в муравейнике держали колонии плесени для предотвращения эпидемии.

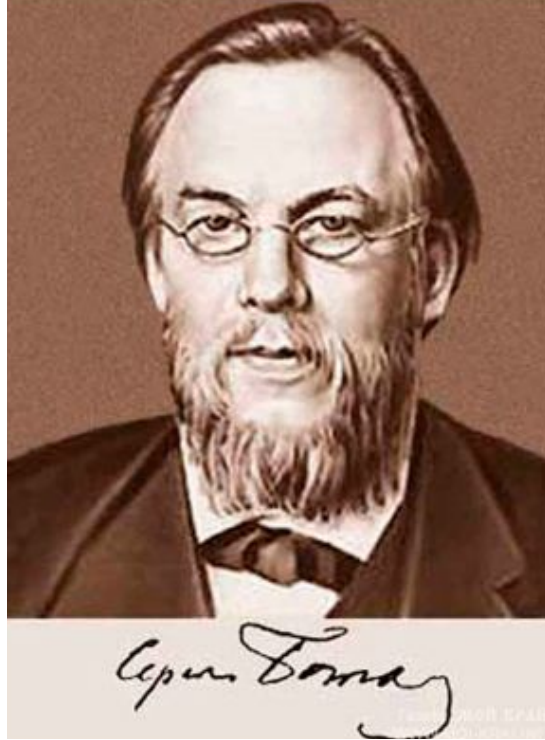
Открытие пенициллина продлило жизнь человека в среднем на 30-35 лет

В 1945 году в мире было известно всего 6 антибиотиков. Сегодня известных антибиотиков минимум в 10 раз больше.

Антибиотики бессильны перед вирусами. Ими не вылечишь, к примеру, грипп или ветрянку.





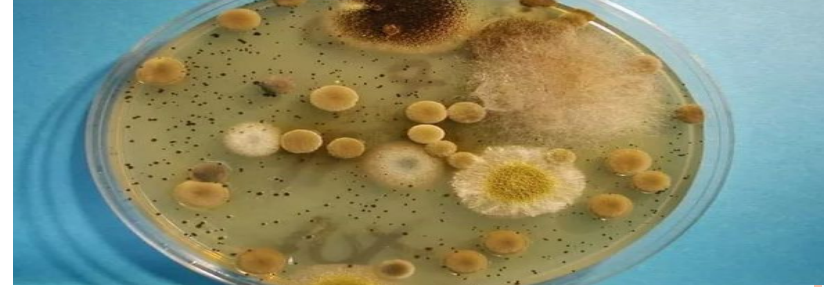


Бактерицидные свойства плесени активно обсуждались и исследовались и в 19 веке. А в 60-ых годах позапрошлого века между двумя российскими медиками - Алексеем Полотебновым и Вячеславом Манассеиным - даже разгорелась самая настоящая научная дискуссия.



А.Полотебнов утверждал, что плесень - родоначальник всех микробов, в то время как В.Манассеин отстаивал совершенно противоположную точку зрения. Для подтверждения своих утверждений, он занялся исследованиями культур зелёной плесени.

Он посеял споры плесени в питательную среду и по результатам наблюдений отметил: там, где рос плесневой грибок, бактерии не развивались. Из этого был сделан закономерный вывод о том, что плесневой грибок препятствует росту других микроорганизмов.



Тот же процесс затем пронаблюдал и А.Полотебнов, признавший в итоге, что отстаивал неверную точку зрения. Полотебнов настолько заинтересовался результатами опытов, что занялся собственными исследованиями бактерицидных свойств плесени. Он даже применял полученные культуры плесени для лечения трудно заживающих кожных язв.

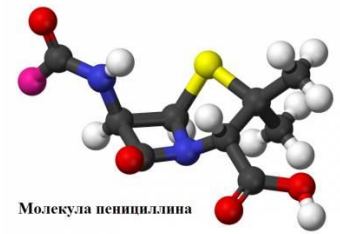
Попытка увенчалась успехом: язвы, покрытые эмульсией, в которой содержался плесневой грибок, быстро заживали. В одной из своих публикаций 1872 года А. Полотебнов рекомендовал использовать плесень для лечения кожных повреждений, однако его идея не завоевала популярность и была, можно сказать, забыта

# *ПРИРОДНЫЕ ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕНИЦИЛЛИНА*

В течение ряда лет пенициллин получали путем выращивания гриба в стеклянных матрацах (бутыли для поверхностного выращивания гриба в любом месте) на жидкой питательной среде. Это создавало огромные трудности в поддержании стерильности при засевах каждого матраца и требовало большой затраты рабочей силы. Учитывая, что выход антибиотика составлял всего несколько десятков единиц на 1 мл среды, себестоимость пенициллина была чрезвычайно высокой. Так, например, стоимость 1 кг пенициллина в США, как отмечал в 1959 г. Гольдберг, составляла в 1943 г. 227 270 долларов, а в 1953 г. — всего 169 долларов, т. е. за 10 лет стоимость 1 кг пенициллина снизилась более чем в 1340 раз.



# ПОЛУЧЕНИЕ ПЕНИЦИЛЛИНА



## *Микробиологический синтез.*

- Отобранные для этой цели в результате селекции промышленные штаммы плесени выделяют более 3 мг/мл бензилпенициллина за 90-120 ч ферментации, что в сотни раз больше, чем удавалось получать пенициллина из природных штаммов.

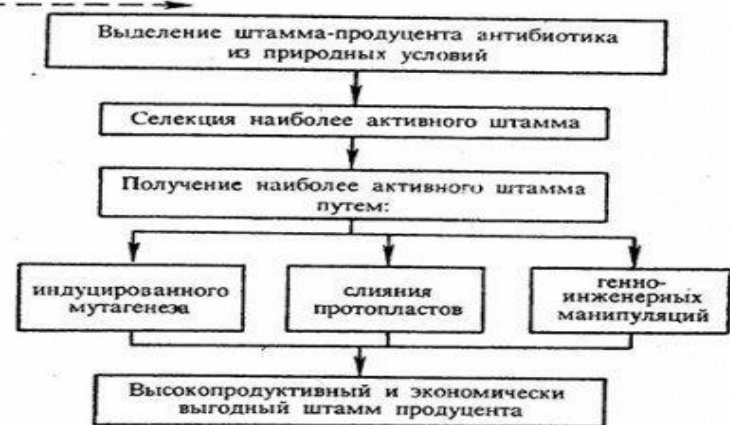
В состав питательной среды обычно входит 1-4% кукурузного экстракта, 3-5% лактозы, 1-2% глюкозы, 0,2-0,5% животного или растительного жира, небольшие количества минеральных солей. Обязательным компонентом является *предшественник*, химическая структура которого сходна с соответствующим данному антибиотику радикалу в положении 6. В частности, при производстве бензилпенициллина предшественником служит фенилуксусная кислота или ее производные; для биосинтеза феноксиметилпенициллина — феноксиуксусная кислота и т. д.



# Микробиологический синтез пенициллина



I стадия



II стадия



III стадия



IV стадия

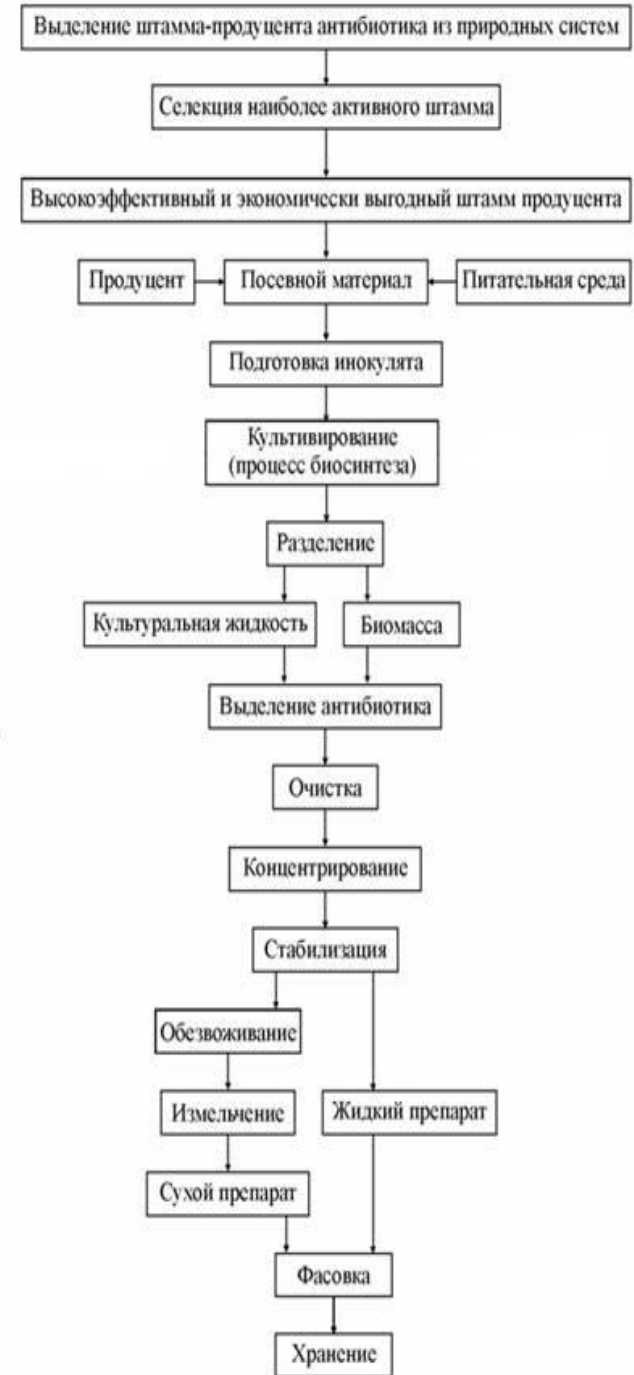


1

2

3

4



# СРЕДЫ

- ▣ - **мясопептонная среда**, в состав которой одновременно с мясным экстрактом и пептоном входят хлорид натрия, фосфат калия, иногда глюкоза или сахароза; используется обычно в лабораторной практике.
- ▣ - **картофельные среды с глюкозой и пептоном**, часто используемые в лаборатории для культивирования многих видов актиномицетов и бактерий;
- ▣ - **среды с кукурузным экстрактом, соевой мукой, бардой и другими веществами**, в состав которых входят сульфат аммония, карбонат кальция, фосфаты, глюкоза, сахароза, лактоза или иные углеводы и ряд других соединений; среды успешно применяются в промышленности, т. к. являются дешевыми и обеспечивают хорошее развитие микроорганизмов с высоким выходом антибиотиков.



Ферментация является основной стадией в производстве пенициллина, на которой формируется целевой продукт. В промышленности применяется метод *глубинной* ферментации, при котором культура микроорганизма выращивается в питательной среде, заполняя весь ее объем. У различных штаммов потребность в источниках питания неодинакова. В связи с этим состав сред не является постоянным и универсальным для всех продуцентов, образующих пенициллин, и меняется с появлением новых штаммов.

Ферментационная среда должна быть составлена таким образом, чтобы развивающаяся культура, потребляя питательные вещества и выделяя продукты обмена, сама создавала необходимые условия и осуществляла переход от фазы роста мицелия к фазе пенициллин образования. Желательно, чтобы вторая фаза была более продолжительной и чтобы процесс ферментации прекращался до наступления автолиза.

Для этого, как и при выращивании посевного материала необходимо одновременное присутствие в среде как легко-, так и трудноусвояемого углевода. Легкоусвояемый углевод обеспечивает быстрый рост и образование обильной биомассы; трудноусвояемый углевод создает условия, благоприятные для биосинтеза антибиотика.







***ЦЕХ ПО ПРОИЗВОДСТВУ  
ПЕНИЦИЛЛИНА***



## *Полусинтетический метод*

- - полусинтетические (новые) пенициллины. Их создание стало возможным благодаря выделению в 1957 г. «ядра» пенициллина — 6-аминопенициллановой кислоты (6-АПК), на основе которой синтезировано множество пенициллинов, обладающих новыми ценными для медицинской практики свойствами. Полусинтетические пенициллины, сохраняя основные преимущества бензилпенициллина (бактерицидность, низкий уровень токсичности), приобрели новые дополнительные свойства, основным из которых является кислотоустойчивость, устойчивость к действию  $\beta$ -лактамаз, продуцируемых резистентными штаммами микроорганизмов, расширение спектра антибактериального действия. В соответствии с этим современные полусинтетические пенициллины распределяются на 4 основные группы.



## • **Полусинтетические пенициллины**

- Кислотоустойчивые препараты, инактивируемые пенициллиназой
  - фенетициллин, пропициллин и фенбенициллин
  
- Пенициллиназоустойчивые препараты
  - Представитель препаратов данной группы метициллин устойчив к пенициллиназе, но разрушается в кислой среде и не может применяться внутрь.
  
- Препараты широкого спектра действия
  - ампициллин, карбенициллин и их производные
  
- Препараты с преимущественной активностью к грам – отрицательным бактериям



## *Кислотный гидролиз*

Насбаумер, анализируя продукт разложения пенициллина, он исследовал влияние 40 различных компонентов на идентификацию пенициллинов. Этот же автор изучил возможность спектрофотометрического определения пенициллинов в различных фармацевтических препаратах.

Прямому анализу этих антибиотиков мешают полиэтиленгликоли и стеараты натрия, однако предварительное разделение методом ТСХ позволяет отделить пенициллины от мешающих анализу соединений. Слои для хроматографического разделения готовят так: смешивают 20 % рисового крахмала с силикагелем G в фосфатном буфере (pH 5,8). Элюирование проводят смесью бутилацетат—н-бутанол—уксусная кислота—фосфатный буфер (pH 5,8) — метанол (80 : 15 : 40 : 24 : 5).



# КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИБИОТИКОВ

## По происхождению:

### Природные:

- Из собственно бактерий (грамицидин с)
- Из актиномицетов (стрептомицин)
- Из грибов и лишайников (пенициллин, цефалоспорины).

### Полусинтетические – продукты модификации молекул:

- Оксациллин, ампициллин и др.

### Синтетические :

- Сульфаниламиды
- Хлорамфеникол – природный, но получают синтетическим путем



# КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИБИОТИКОВ



## По спектру антимикробной активности:

- Антибактериальные
- Противогрибковые
- Антипротозойные

## По типу взаимодействия:

- **Бактериостатические** – ингибируют рост, но не вызывают гибели бактерий, клетки сохраняют способность к росту (макролиды).
- **Бактерицидные** – убивают бактериальную клетку (аминогликозиды, пенициллины, цефалоспорины).



Рис. 3.14. Механизм действия антибиотиков на бактерии

# СОВРЕМЕННАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

## Уникальные свойства антибиотиков:

- ▣ **Мишень-рецептор** находится не в тканях человека, а в клетке микроорганизма.
- ▣ **Активность антибиотиков** не является постоянной, а снижается со временем, что обусловлено формированием устойчивости (резистентности).
- ▣ **Резистентность** – неизбежное биологическое явление, предотвратить ее практически невозможно.
- ▣ **Антибиотикорезистентность** – это опасность не только для пациента, но для многих других людей.



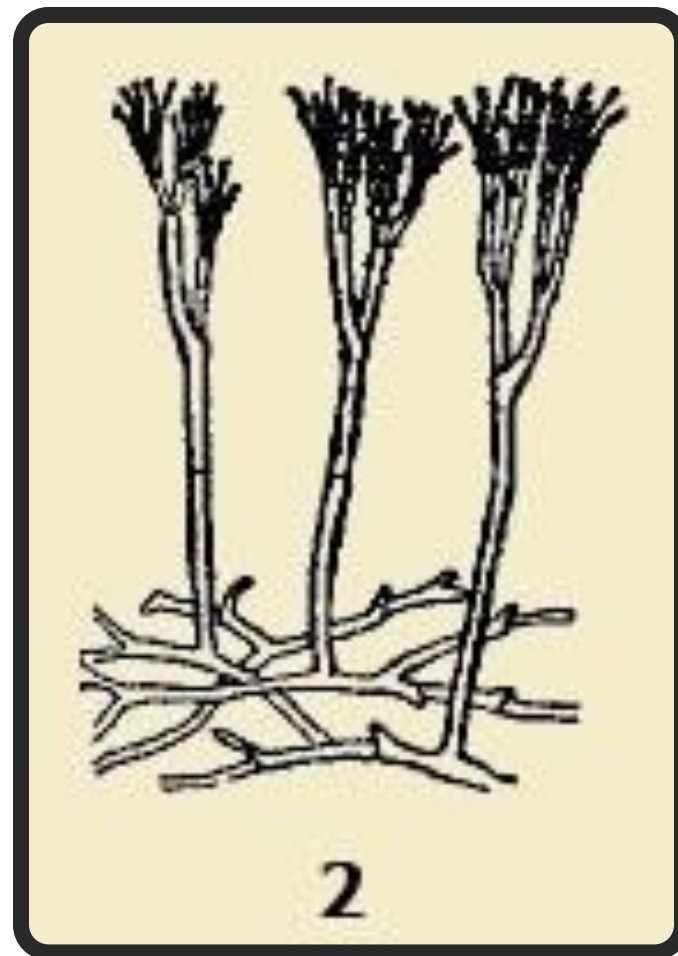
## *СВОЙСТВА АНТИБИОТИКОВ И ТРЕБОВАНИЯ К НИМ*

- **Высокая биологическая активность по отношению к чувствительным микроорганизмам.**
- **Избирательность действия - активность в отношении отдельных групп микроорганизмов.**

### **Требования :**

- **Максимальная терапевтическая эффективность при минимальной концентрации в организме человека.**
- **Максимальное действие при минимальной токсичности.**
- **Стабильность при широких диапазонах рН(per os).**
- **Не вызывать аллергических реакций у хозяина**
- **Не воздействовать на нормальную микрофлору**

# *ПЕНИЦИЛЛИН*



2

5

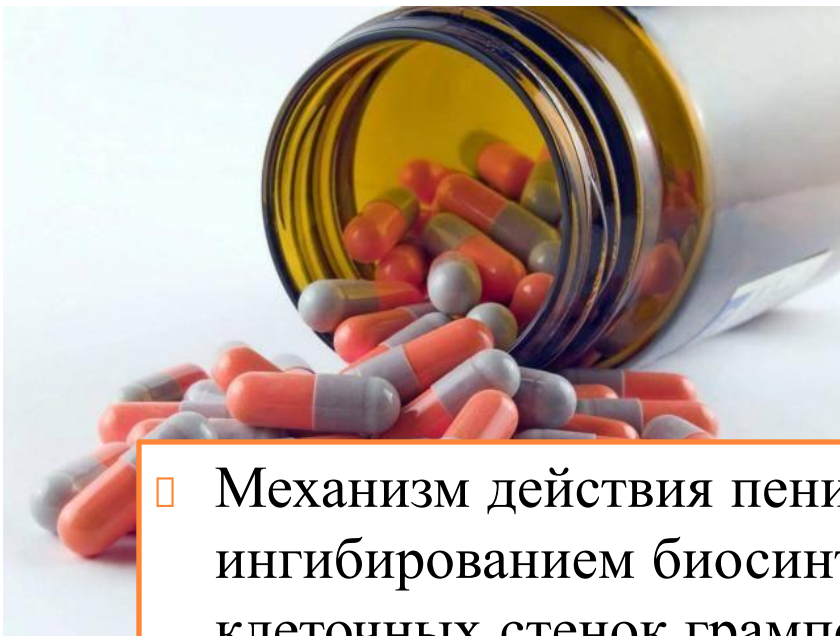
## КАКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ТРЕБУЮТ ЛЕЧЕНИЯ АНТИБИОТИКАМИ?

- острый пиелонефрит
- острый бронхит
- ангина или острый фарингит
- гнойные воспаления
- менингит
- острый холецистит, панкреатит
- туберкулез
- онкологические заболевания
- половые инфекции
- острый цистит и т. п.

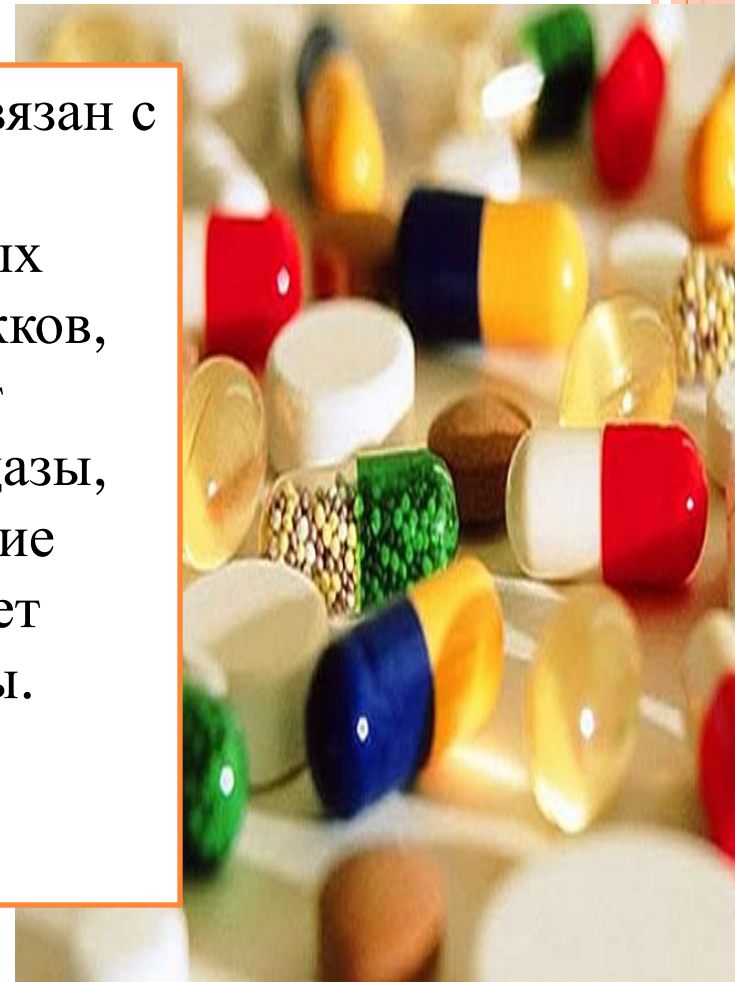


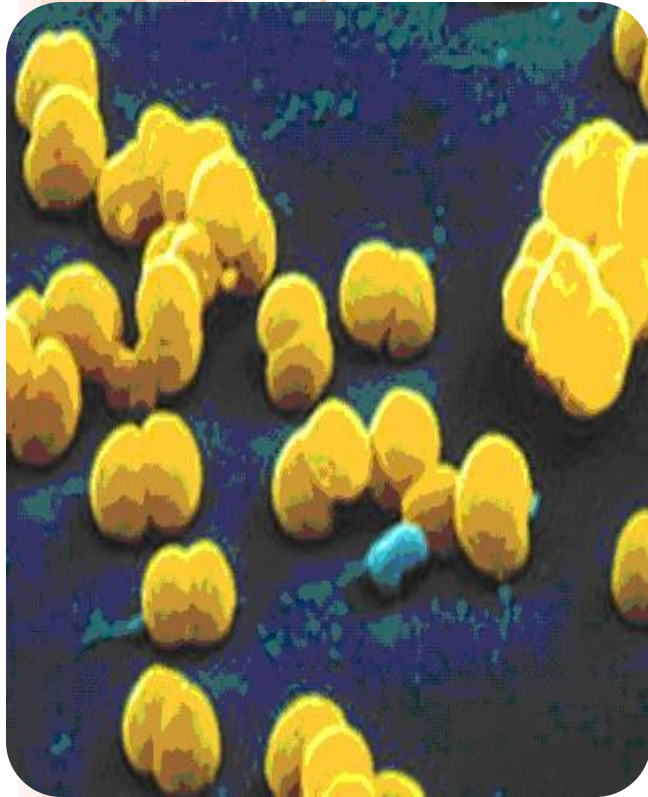
**Кроме всего прочего, сами антибиотики могут вызывать патологические процессы в организме, особенно - при неправильной дозировке и применении.**





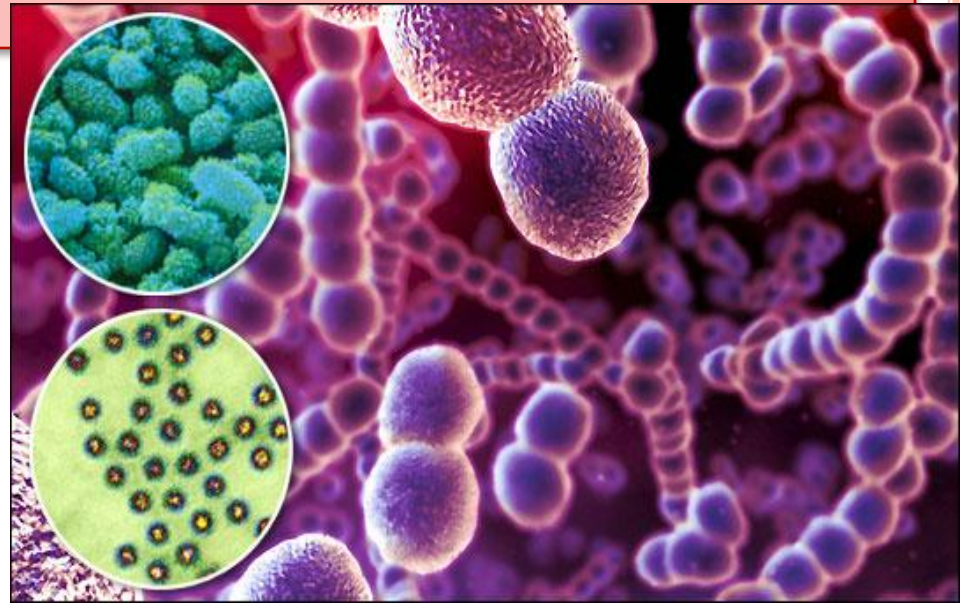
- Механизм действия пенициллинов связан с ингибированием биосинтеза белков клеточных стенок грамположительных бактерий (стрептококков, стафилококков, пневмококков). При этом происходит дезактивация клеточной транспептидазы, катализирующей поперечное сшивание белков. Фермент ошибочно принимает структуру пенициллина за дипептиды.





Каждый антибиотик действует на строго определенные микроорганизмы. Так, например, пенициллин активно действует на так называемые кокки — стрептококк, менингококк, гонококк, пневмококк, но не действует на кишечную палочку, дизентерийную палочку, сальмонеллу.

Левомицетин и ампициллин действуют и на первых, и на вторых. Т. е. спектр действия левомицетина шире, чем спектр действия пенициллина. Отсюда очевидные понятия «антибиотик широкого спектра действия» и «антибиотик узкого спектра действия».



Важным этапом в увеличении выхода пенициллина было изучение условий образования антибиотика.

Первая среда для глубинного образования пенициллина была разработана Мойером и Кохиллом в 1946 г., в ее состав входил кукурузный экстракт, лактоза,  $\text{NaN}_3$ , глюкоза, однозамещенный фосфорнокислый калий и другие соли. Эта среда была основной, на ее базе были разработаны среды, используемые при промышленном производстве пенициллина.

## БИОХИМИЧЕСКАЯ РОЛЬ

Пенициллины влияют на синтез клеточной стенки, а именно на синтез пептидогликана. Синтез пептидогликана (гликопептида) очень сложен, фактически он является одним из важнейших компонентов стенки - это арматура клеточной стенки. Подобное явление наблюдается при выращивании микроорганизмов в отсутствии незаменимых аминокислот, и прежде всего в отсутствии лизина или его предшественника - диаминопимелиновой кислоты. И, если в непрерывный синтез пептидогликана вмешивается  $\beta$ -лактамный антибиотик, то синтез пептидогликана нарушается.

Под действием пенициллина из грамположительных клеток образуется протопласт, не несущий оболочки, а из грамотрицательных - сферопласт, имеющий остатки оболочки на поверхности клетки. Клетки, потерявшие клеточную стенку в результате мутации или разрушающего воздействия, называются также L-формами и могут существовать только в изотонических растворах.





Без преувеличения можно заявить, что за всю историю человечества еще не было такого лекарства, которое спасло бы столько жизней, сколько это сделал пенициллин.

