

Микроорганизмдерден антибиотиктерді өндіру технологиясы

Антибиотиктердің жіктелуі.

Жаңа кезеңнің антибиотиктерін жасау. Жаңа штам-продуценттерді іздестіру; белгілі антибиотиктердің химиялық модификациясы.

Табиғи антибиотиктердің химиялық трансформациясы – жартылай синтездік препараттар.

Антибиотиктерді алудың технологиялық схемасы

Антибиотиктердің жаңа түрлерін іздеудің негізгі жолдары

Антибиотиктерге резистенттіліктің проблемалары.

Пенициллин алудың технологиялық схемасы

Антибиотиктер дегеніміз – биологиялық қоспалар. Олар тірі клеткалардан алынады жән аз мөлшерде байытылғанның өзінде оған сезімтал микроорганизмдерді толық жойып жібере алады немесе өрбуін бәсеңдетеді. Олар тек микроорганизмдер мен өсімдіктерден ғана емес, аңдардың клеткаларынан да алынады. Антибиотиктердің өсімдіктерден алынғанын – фитонциттер деп атайды. Оларға сарымсақтан алынатын хлорепин, томатин, сативин және пияздан бөлінетін апиндер жатады.

Қазіргі кезде микробтардан көптеген антибиотиктер алынады. Солардың кейбір маңыздыларына тоқталып өтелік.

Пенициллин – пенициллум зең саңырауқұлақтарынан алынатын антибиотик. Оған стрептококктар, стафилококктар және пневмококктар жатады. Таяқша тәрізді бактериялар шар тәрізді түрлеріне қарағанда пенициллинге төзімді болады. Пенициллин микробтар жасушасына өте шапшаң енеді. Пенициллин әсер еткен микробтардың сыртқы пішіндері өзгереді, өніп-өсу қабілеті жойылады, қоректенуі баяулап қалады.

Антибиотик әсерінен жасуша қабығының құралуы бүлінеді, протоплазма ыдырап, жасуша өледі. Пенициллин тіршілік ортасында шамадан тыс көп жиналса, оның биологиялық активтігі кеміп кетеді. Пенициллин медицинада кеңінен қолданылады. Қазіргі кезде пенициллиннен әсері күштірек оның бірнеше түрлері алынады. Олар пенициллиназа ферментіне аса төзімді метициллин, қышқыл ортада көп уақытқа дейін ыдырамай сақталатын оксациллин антибиотиктері.

Медициналық және мал дәрігерлік практикада антибиотиктердің басым көпшілігі актиномицеттерден алынады. Актиномицеттердің жалпы бейнесі 28-суретте көрсетілген.

Стрептомицин – актиномицеттің бір түрінен алынатын антибиотик. Оның көптеген микроорганизмдерді, соның ішінде өкпе ауруы таяқшасының тіршілігін жоятын қасиеті бар. Пенициллинге қарағанда ол жасушаға нашар сіңеді. Дегенмен ол жасушадағы тотығу процесін шапшаң тоқтатады.

Стрептомицин тұз және күкірт қышқыл тұздары түрінде өндіріледі. Медицинада бұл антибиотиктің аса тиімді екені толық дәлелденді.

Грамицидин – спора түзетін топырақта тіршілік ететін Бацилус бревис микробынан алынады. 1942 жылы одан «С» грамицидин антибиотигі алынады. Ол стафилококктарға,

стрептококктарға, пневмококктарға жойқын әсер етеді. Сонымен қатар актиномицеттердің әр тобынан алынған, окситетрациклин деген антибиотиктер де медицинада кеңінен қолданылады. Тетрациклиннің азғана концентрациясы белок синтезін, ал жоғары концентрациясы нуклеин қышқылдарының түзілуін тежейді.

Антибиотиктер әрқайсысы жеке микробтарға ғана әсер етеді. Бактерияларға қарсы антибиотиктер ауру қоздырғыш саңырауқұлақтарға әсер ете алмайды. Бірақ мұндай ішінен тиімді деп танылғандары гризеофульвин мен нистатин.

Гризеофульвин – зең саңырауқұлақтарының кейбіреуінен бөліп алынған антибиотик. Көптеген тері, шаш ауруларын емдеуге кеңінен қолданылады. Ашытқылар қоздыратын кандидамикоз ауруына бұл препарат қолданылмайды.

Нистатин – кандидамикоз ауруына қарсы қолданылғанда жақсы нәтиже беретін антибиотик. Бірқатар микроорганизмдер антибиотиктерді үзбей қолданғанда оған төзімділік көрсетеді. Кейбір антибиотиктер мұндай жағдайда микробтардың өзіне жем болады. Мұндай кезде антибиотиктер мен химиялық дәрі-дәрмектерді қосып қолданса жақсы нәтиже алуға болады. Кейбір микробтар антибиотиктерді бүлдіретін ферменттер түзеді.

Микробтарға жойқын әсер ететін заттарға лизоцим жатады. Оның өзі аздап сілті реакциялы белок. Әсіресе ауру қоздырғыш микробтарға – сіреспе вибриондары мен сібір жарасын қоздырушыларды қырып жіберетін қасиеті бар. Лизоцим сілекейде, көз жасында қан сарсуында, лейкоциттерде, сүтте, тауық белогында, балық уылдырығында кездеседі.

Фитонцидтер - өсімдіктер тіршілігі барысында түзіледі де, бактериялар мен саңырауқұлақтарға жойқын әсер етеді. Өсімдіктердің бұл қасиетін алғаш рет 1930 жылдары Б.Т.Токин ашқан болатын.

Фитонцидтерді шапшаң бұзылатын өнімдерді сақтау мақсатында қолдану кеңінен сыналуда. Сондай-ақ антибиотиктерді де тамақ өнеркәсібінде қолдану қолға алынады. Оларды балық, құс өнімдерін, ашытқы өндіру заводтарында зиянды микробтарға қарсы қолданады. Антибиотиктердің ішінде хлортетрациклин, пеницил мен низин, тағы басқалары тиімді болатыны анықталды. Антибиотиктерді тамақ өнеркәсібінде пайдалану экономикалық жағынан көп пайда келтіре алады.

Алдын антибиотиктерді олардың продуценттері – бактериялар, актиномицеттер, саңырауқұлақтар бойынша жіктеген, топтастырған.

Биологиялық әсер етулері бойынша антибиотиктер бактерияларға қарсы, фунгициттерге (саңырауқұлақтануға) қарсы және қатерлі ісікке қарсы болып бөлінеді. Бактерияларға қарсыларына: пенициллин, эритромицин, олеандомицин, карбомицин және басқа да оң (+) грамм бактерияларын егетін. Сол сияқты теріс (-) грамды бактериялар ететін тетрациклин, неомицин, стрптомицин, полимиксин, грамицитин және басқалар; туберкулезге қарсы әсер ететін стрептомицин, биомицин, циклосерин және де басқа антибиотиктер жатады. Саңырауқұлақтануға қарсы антибиотиктер тобына жататын нистатин, гризеосульфид, леворин, кандицитин және “В” мфотерициндер кіреді. Қатерлі ісік ауруларына қарсы антибиотиктер болып актиномицин және “С” митомицині есептеледі.

Химиялық құрылысы бойынша антибиотиктер (М.М.Шемянин және А.С.Хохлов бойынша) мынадай топтарға бөлінді.

1. Алифатикалық антибиотиктер – нистатин, миностатин, фунгицитин. Нистетинді (C16 H15NO18 және 19) *Streptomyces tungicidicus*. *Str. noursei* етеді. Ол ашытқыға және саңырауқұлаққа ықпал етеді, бірақ бактерияларға әсер етпейді.

2. Аликцикликалық антибиотиктер – тетрациклин – стафилакокқа, стептакокқа, салмонеллаға және басқаларға әсер етеді. Оның продуценті – *Str.vividofac* Тетрацилинді хлортетрацилинді хлорсыздандыру арқылы да алуға болады. Егер тетрациклин молекуласының “В” шеңберінің көміртегісінің жоғарғы атомында он тобы болатын болса, онда бұл құрамды (сол секілді кең танымал антибиотикалық затты да) окситетрациклин деп атайды. Оның продуценті – *Str. rimosus* және басқа егінділер.

Егер тетрациклин молекуласы “Д” шеңбері көміртегісі жоғарғы атомында хлор атомы болатын болса, ондай жағдайда бұл зат хлор тетрациклин немесе биомицин деп аталады. Ол тек медицинада ғана емес стимулятор ретінде үй жануарларын бақылауға да пайдаланады.

3. Антибиотиктер - хинодар (мысалы *Aspergillus* –тің көптеген түрлерімен продуцент ететін фумигатин) стафилакоктарға, стептококтарға, *Vibrio cholerae*-тарға және басқаларға әсер етеді.

4. Құрамында азот бар гетероципиндік антибиотиктер – пенициллин және оның туындылары *Penicillium rotatum* және әсіресе *P. chrycodenum* дерлин продуцент етімді. Ал -*Salmonella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium Tuberculosis*, *Streptococcus faecalis*, *Vibrio* және басқа да оң (+) грамды бактерияларға әсер етеді.

5. Стрептомициндер және осы тектес антибиотиктер. Стрептомицинді *Streptomyces griseus* немесе *Actinomyces Streptomycini* (совет ғалымдарының жіктеулері бойынша) продуцент етеді. Ол теріс (-)грамды бактерияларға сол сияқты кейбір оң (+) грамды бактерияларға әсер етеді.

6. Құрамында оттегі бар гетерациклиндік антибиотиктер- гризеофульвин және басқаларға әсер етеді.

7. Антибиотиктер- полипептидтер- грамицидин, полимиксин және басқалар. Құрылысы бойынша олар L және D – аминоқышқылдары қалдықтарының циклопептидтері болып саналады. Полипексинді *Bacillus polymyxa*, *B. Aerosporus*-тер продуцент етеді.

Қазіргі кезде өте көп әр түрлі антибиотиктер шығарылады. Мысал ретінде төменде пенициллин мен азықтандыратын биомициндерді алу технологиялары жетілді.

Пенициллин - өндірістік жолмен бірінші рет шығарыла бастаған микроб тектес антибиотик еді. Ең алдын оны үстір өсіру әдісімен алатын. Оны алу технологиясы тіптен анайы еді, себебі продуцентті колбада немесе шыны ыдыста өсіретін. Арнайы жағдайда алынатындығына қарамастан, оған сұраныстың жоғары болуы себепті, оны өндіру көлемі өсе түсті. Продуцентті егу үшін керек десең сүр өнімдерін құятын шөлмектер де пайдаланылатын, себебі ол ыдыстарды жуатын және өңдейтін машина пар болушы еді. Әрбір шөлмекте тиісті желдету жағдайын қамтамасыз ететін 1-4 см қоректік орта қабаты орналастырылатын. Ол ыдыстарды арнайы кәрзеңкелерге салып, залалсыздандырып, салқындататын. Құрғақ спораларды немесе олардың сулы суспензияларын шөлмектергеерекше бүріккіштермен немесе пипеткалар көмегімен енгізтін және 5-10 тәулік бойына 24*С жылулықта фермент етілуге қойылатын.

Қазіргі кезде бүкіл әлемде пенициллинді басқада антибиотиктер сияқты тереңдетіп егу әдісімен алып келеді.

Пенициллин продуценттері ретінде *Penicillium chrysogenum* егіндерінің өсіктері (штамдары) кеңінен пайдаланылады. *Penicillium* түрлері споралар (конидийлер) тудырады. Мицелиялардың дамуында әр түрлі фазалар көрініс береді. Мицелияның бастапқы ортаңғы өрбу барысында клеткаларда майлар жиылып, қорланады. Кейіннен олардың сандары азая түсіп, рибонуклеополифосфат түйіршіктері бар вакуольдер пайда болады, одан соң аутолиз басталады. Пенициллин қоспалары үдей түсуі үлкен мөлшердегі мицелия биомассасы бар болған. Глюкоза мен сүт қышқылын бейтарап жағдайға жақын ортада және рН жағдайында толық пайдаланған жағдайда басталады.

Пенициллинді зерттегенде, оның қышқылдық гидролизі құрамында әр қашанда В-диметилцистан орын алатындығына көз жеткіземіз. Қоректік орта заттарына C14, N15, S32 белгіленген атомдарын енгізу арқылы пенициллиннің биосинтез механизмі зерттелген болатын.

Бензилпенициллиндік қышқыл L-цистиннен фенилуксус қышқылынан және диметил пировиниградтың қышқылдарынан жинақталады деп саналады. Пенициллинді алу үшін алдын спораларды көбейтіп өсіреді. Олардың құрамына 0,5% масса, 0,5% пептон, 0,4% ас тұзы, 0,01% бір рет араластырылған калий фосфаты және 0,005% магний сульфаты кіретін агарланған ортада өсіреді. Спораларды 25-27*С жылу ортасында 4-5 тәулік бойына өсіреді.

Өндірісте спораларды мицелийдің шыны флакондарда тары ортасында өсіру арқылы алады. Құрғатылған споралық материалды бөлме жылуы жағдайының өзінде де сақтауға болады. Алынған споралық материалды инокуляторлады егу үшін пайдаланылады.

Егу ферменттерінде мицелий 12-18 сғат өсіріледі, 15-20 %-дық егін сұйығы көлемін негізгі ферментацияның басталуы үшін пайдаланады. Мицелий мен пенициллин биосинтезін өсіру үшін қоректік ортаны, әдетте жүгері экстрактысынан, лактозадан, глюкозадан, минерал заттарынан және антибиотикке жол салушы – кейбір фенил сірке су қышқыл дәрі-дәрмектерінен дайындалады.

Пенициллиннің негізгі ферментациясы үшін өндірісте пайдаланылатын кейбір қоректік орталардың құрамдары төмендегі кестеде келтірілген.

Пенициллин алу үшін ферментациялық орталар құрамдарының кестесі

Компонент	жүгері		майлылығы
Кукурузді экстракт	2,0-3,0	-	2,0-3,0
Жаңғақ және күнбағыс	-	2,0-4,0	-
Лактоза	5,0	5,0	1,0
Глюкоза	1,5	1,5	1,5
Өсімдік майы	0,5-0,1	0,5-0,1	2,5-3,5

Аммони нитраты	0,4	0,4	0,4
Натрий сульфаты	0,05	0,05	0,05
Калий фосфаты	0,4	0,4	0,4
Магний сульфаты	0,025	0,025	0,025
Натрий тиосульфаты	0,2	0,2	0,2
Бор	0,5-1,0	0,5-1,0	0,5-1,0
Пенициллин	0,3-0,4	0,3-0,4	0,3-0,4

Ортаның әсер етуін тұрақтандыру үшін бор пайдаланады. Ферментациялауды 22-26*С жылууда 5,0 – 7,5-ке дейін рН ортасы шекарасында, үдемелі желдету ортасында жүргізеді. 4 тәулік барысында пенициллин мөлшері өзінің шегіне жетеді. Сондықтан да ферментация тоқтатылады. Мицелий құрылуының, пенициллин биосинтезінің және ортадан лактозды пайдалану динамикасы мицелиді сүзу арқылы бөледі. Оны мал шаруашылығында белоктар мен витаминдердің қайнар көзі ретінде қолдануға болады, ал егінді сұйықтығынан пенициллин бөлігі алынады. Мицелийді бөліп алғаннан кейін фильтратта 3-6 % құрғақ заттар қалады, олардың 30-40 %-ын пенициллин құрайды. Одан басқада онда 50-200 мг /100 гр, ал кейде 100гр ерітіндіде 700 мл-ға дейін белок болып, лар пенициллин бөлуін өте қиындатады. Белок қоспаларын әр түрлі алдын-ала өңдеу әдістерін пайдаланып аластайды, мысалы көпвалентті металл тұздарымен тұндыру (Al, Fe, Zn) танинмен коагуляциялау немесе рН 5,5-6,0 ортасында жоғары температура (65-70*С) арқылы аластау. Бұл процесстерде пенициллин жағыны 5-15 %-ды құрайды.Бұдан кейін пенициллинді сумен араласпайтын органикалық ерітінділермен (бутил ацетат немесе амил ацетатпен) экстрагирайиядан өткізеді. Бұл кезеңде рН ортасын 1,9-2,0 аралығында ұстау қажет. Экстракция нәтижесінде алынатын зат тазалығы 4-6 есе өседі. Одан кейін пенициллинді бутилацетаттың экстрактын бикарбонат натрий ерітіндісі 6,6-7,2 рН ортасы көмегімен суда ерітіп, құрғақ заттарды құрамы 5-7 % және активтілігі 30000-50000 мл ерітінді алынады. Пенициллинді тазарту үшін оны тағы да органикалық ерітіндімен экстракциядан өткізеді. Экстракция жасағанда фазалар арақатынасы 1:0,5 – 1:1, ал экстракт активтілігі 50000-70000 млн болуы керек. Пенициллин шығуы оның егінді сұйығы мөлшерінің шамамен 86%-ын құрайды.

Кейінгі кезде пенициллинді экстракциядан өткізу және химиялық тазарту үзіліссіз схема бойынша жүргізіледі. Пенициллинді және басқада антибиотиктерді медицинада пайдалану үшін, активті заттарды бөліп шығаруға және тазартуға аса көңіл бөліну қажет. Антибиотиктерді алудың басқа микробиологиялық биосинтез саласынан өзгешелігі, оның егінді сұйығындағы активті заттарының құрамдарының өте аз мөлшерде болатындығына байланысты келеді. Сондықтанда оларды химиялық тәсілдермен бөлу күрделене түседі, одан да басқа, бұл заттардың жоғары дәрежеде және кепілді түрде таза бөлу қажеттігі туындайды.

Антибиотиктердің активтілігін анықтауда микробиологиялық әдістемелер кең қолданылады. Залалсыздандарылған Петри табақшасына 21 мг агарланған ортаны құйып, оның мүмкіндігін береді. Агар үстіне 4 мг басқа құрамдағы агарланған ортаны осы антибиотикке әсерлі тест – дақылмен бірге құяды. Бұл агарланған ортада қатайғаннан кейін, оның бетіне ұзындығы 10 мм, жуандығы 6 мм 4 залалсыздандырылған цилиндргн тіке

орналастырады және оларды белгілі мөлшерде байытылған стандартты антибиотик ерітіндісімен зерттелгелі отырған ерітіндімен толтырады. Дайындалған Петри шыны табақшаны 37*С температурада термостатқа орнатады. 11-18 сағаттан кейін дақылдық тест өсіп шықпаған цилиндр зонасының диаметрін анықтайды. Пенициллинді активтілігін тексергенде әдетте культура ретінде (штаммы 209-р н/е 9144) алтын түсті стафилакокк (*Staphilococcus aureus*) пайдаланылады.