

ЛЕКЦИЯ № 6

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ (АНТИБИОТИКОВ), ИСПОЛЬЗУЕМЫХ КАК ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

Для студентов, обучающихся по направлению подготовки «Биология»
(профиль «Биохимия») при изучении дисциплины «Биотехнология в производстве антибиотиков»

ПЛАН ЛЕКЦИИ

1. Понятие «вторичные метаболиты»

2. Аспекты биотехнологического получения антибиотиков

2.1. Понятие об антибиотиках. Исторический обзор

2.2. Биологическая роль антибиотиков в природе

2.3. Классификация антибиотиков

2.4. Механизмы биосинтеза антибиотиков

2.5. Продуценты антибиотиков

2.6. Биотехнология антибиотиков

2.6.1. Общая биотехнологическая схема производства антибиотиков

2.6.2. Пути повышения выхода антибиотиков

Понятие «вторичные метаболиты»

- Вторичные метаболиты (идиолиты) – низкомолекулярные соединения, не требующиеся для роста в чистой культуре
- К вторичным метаболитам относятся: антибиотики, алкалоиды, гормоны роста, токсины и т.п.

Биосинтез вторичных метаболитов

- - первая фаза развития (тропофаза или фаза сбалансированного роста) микроорганизмов – продуцентов вторичных метаболитов характеризуется тем, что в культуре продуцента происходит быстрое накопление биомассы, сопровождающееся интенсивным потреблением основных компонентов субстрата (источников углерода, азота, фосфора и др.), некоторым снижением значения рН среды в результате образования кислых продуктов. В этот период биосинтез вторичного метаболита (антибиотика) не происходит или осуществляется в очень незначительном количестве.
- - вторая фаза (идиофаза или фаза несбалансированного роста) развития микроорганизмов – продуцентов вторичных метаболитов характеризуется снижением общего количества биомассы. В данный период еще происходит развитие микроорганизма и образование новых клеток. Однако, в культуре начинают преобладать процессы автолиза, что приводит к снижению общего количества биомассы. Среда обогащается продуктами обмена и продуктами автолиза клеток, возрастает значение рН среды, происходит интенсивный процесс биосинтеза вторичного метаболита (антибиотика). Многие исследователи полагают, что в конце трофофазы изменяется энзиматический статус клеток, появляются индукторы вторичного метаболизма, освобождающие гены вторичного метаболизма из-под влияния катаболитной репрессии. В связи с этим, любые механизмы, тормозящие клеточную пролиферацию и активный рост, стрессовые ситуации, активируют процесс образования вторичных метаболитов (антибиотиков). Во второй фазе ферментацию осуществляют на продуктивной среде.

Понятие об антибиотиках. Исторический обзор

- Антибиотики – это продукты обмена микроорганизмов, избирательно подавляющие рост и развитие бактерий, микроскопических грибов, опухолевых клеток.
- Антибиотики представляют собой специфические продукты жизнедеятельности микроорганизмов, их модификации, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определенным группам микроорганизмов (бактериям, грибам, водорослям, протозоа), вирусам и злокачественным опухолям, избирательно задерживающие их рост или полностью подавляющие их развитие.

История открытия антибиотиков

- Впервые термин «антибиотик» был предложен А. Вюименом в 1889 г., для обозначения действующего агента антибиоза, т.е. сопротивления, оказываемого одним живым организмом другому.
- В конце XIX в. русские ученые В.А. Манассея и А.Г. Полотебнов показали, что грибы из рода *Penicillium* способны задерживать в условиях *in vivo* развитие ряда кожных заболеваний человека.
- После 40-х гг. XX в. было получено множество клинически важных антибиотиков. В их число вошли: бацитрацин, хлорамфеникол (левомицетин), хлортетрациклин, окситетрациклин, амфотерицин В, циклосерин, эритромицин, гризеофульвин, канамицин, неомицин, нистатин, полимиксин, ванкомицин, виомицин, цефалоспорины, ампициллин, карбенициллин, аминогликозиды, стрептомицин, гентамицин и др.
- В настоящее время открывают все новые и новые препараты антибиотиков.
- Изучение антибиотиков в нашей стране было начато З.В. Ермоловой в 1942 г. под ее руководством в лаборатории биохимии микробов Всесоюзного института экспериментальной медицины (Москва) был получен первый отечественный пенициллин – крустозин, сыгравший огромную роль во время Великой Отечественной войны.

Причины поиска новых антибиотиков

- многие антибиотики являются незаменимыми лекарственными средствами, широко применяющимися при лечении большого числа инфекционных заболеваний, которые до открытия антибиотиков, считались неизлечимыми или сопровождались высоким летальным исходом (туберкулез, чума, холера, брюшной тиф и др.);
- антибиотики необходимы в сельском хозяйстве в качестве лекарственных препаратов, применяющихся в животноводстве, птицеводстве, пчеловодстве и растениеводстве. Кроме того, отдельные антибиотики находят применение в качестве стимуляторов роста животных;
- при широком применении антибиотиков в качестве лекарственных препаратов происходит быстрое накопление резистентных к ним форм микроорганизмов, что требует поиска все новых и новых антибиотиков;
- некоторые антибиотики с успехом применяются в пищевом производстве в качестве консервантов скоропортящихся продуктов (свежей рыбы, мяса, сыра и овощей);
- антибиотики – это новые, ранее не известные по химическому строению соединения. В этой связи, они представляют огромный интерес для специалистов в области химии природных соединений в аспекте изучения структуры этих веществ. Кроме того, биосинтез некоторых из них способствовал бурному развитию химии, а, следовательно, и самой науки об антибиотиках;
- антибиотики нашли широкое применение в научных исследованиях в качестве веществ, используемых при изучении отдельных сторон метаболизма организмов, расшифровки тонких молекулярных механизмов биосинтеза белка, механизма функционирования мембран и других биохимических превращений в качестве специфических ингибиторов определенных реакций;
- изучение путей образования антибиотиков способствует глубокому проникновению в механизмы синтетической деятельности продуцентов данных БАВ, раскрытие основных этапов их метаболизма.

Биологическая роль антибиотиков в природе

- Первая теория исходит из того, что образование антибиотиков следует рассматривать как специфическую особенность обмена веществ организмов, возникшую и закрепленную у них в процессе эволюционного развития. Образование и выделение антибиотиков в окружающую среду при жизни организмов или после их отмирания является важнейшим фактором в борьбе за существования видов.
- Вторая точка зрения состоит в том, что антибиотики, синтезируемые микроорганизмами, носят случайный характер, зависящий лишь от условий культивирования. По мнению ряда авторов (Ваксман и др.), образование антибиотиков является не закрепленным свойством микроорганизма, проявляющимся только при его развитии в специфической питательной среде и при наличии особых внешних условий. В этой связи, антибиотики не имеют для своих продуцентов приспособительного значения, а их образование не связано с эволюцией микроорганизмов. Данная точка зрения основывается на двух положениях:
 - 1. не все микроорганизмы образуют антибиотики, что, однако, не мешает их широкому распространению в природе;
 - 2. антибиотики, даже самые устойчивые, довольно быстро инактивируются в почве, в этом естественном местообитании большинства микроорганизмов. Только при максимальном насыщении почвы антибиотиками можно получить соответствующий биологический эффект.

Классификация антибиотиков

| Класс | Типичные антибиотики | Продуценты | Объект воздействия | Механизм действия | Трудности терапевтического применения |
|--------------------------------|---|--|---|--|---|
| β-Лактамные | Пенициллины, цефалоспорины | Грибы родов <i>Penicillium</i> , <i>Cephalosporum</i> | Грамположительные и грамотрицательные бактерии | Нарушение синтеза клеточной стенки | Аллергические реакции |
| Аминогликозидные | Стрептомицин, гентамицин, канамицин, тобрамицин, амикацин | Актиномицеты рода <i>Streptomyces</i> , бактерии родов <i>Micromonospora</i> , <i>Bacillus</i> | В основном грамотрицательные бактерии | Необратимое подавление синтеза белка | Токсическое действие на слуховой нерв и почки |
| Тетрациклины | Одноименные антибиотики | Актиномицеты рода <i>Streptomyces</i> | Грамположительные и грамотрицательные бактерии, риккетсии, хламидии, простейшие | Обратимое подавление синтеза белка | Распространение устойчивых штаммов |
| Макролиды | Антибактериальные: эритромицин. Противогрибковые и антипротозойные: полиены | Актиномицеты рода <i>Streptomyces</i> . То же | Грамположительные бактерии. Грибы, некоторые простейшие | То же. Нарушение плазматической мембраны | Токсичность |
| Полипептидные и депсипептидные | Полимиксины, грамицидины, бацитрацины | Различные микроорганизмы | В основном грамотрицательные бактерии | Механизм действия различен | Высокая токсичность |

Классификация антибиотиков

- Антибиотики по направлению действия классифицируются на следующие группы:
- антибактериальные, губительно действующие на грамположительные (бензилпенициллин, ристомицин, новобиоцин), грамотрицательные (полимксин) бактерии и антибиотики широкого спектра действия (левомицетин, канамицин, мономицин, гентамицин);
- противогрибковые (нистатин, леворин, гризеофульвин);
- антипротозойные;
- противовирусные;
- противоопухолевые, включающие в себя шесть групп: актиномицины, антракциклины, оливомицины, брунеомицины, блемицины, а также такие интерфероны, как стоталон и эленин.

Классификация антибиотиков по химической структуре:

- ациклические (нистатин, кандицин);
- гетероциклические (гризеофульвин);
- макроциклические (макролидазы, эритромицины);
- ароматические (гигромицин);
- аминогликозидные;
- полипетазы (грамицидин, полимексин);
- пенициллины;
- актиномицины;
- стрептоцины.

Классификация антибиотиков по молекулярному механизму действия:

- антибиотики, действующие на синтез бактериальной клеточной оболочки (пенициллины, ристомицин);
- антибиотики, нарушающие синтез белков (тетрациклины, макролиды, левомицетин);
- антибиотики, нарушающие синтез белков и порядок генетического кода (аминогликозиды);
- антибиотики, нарушающие синтез нуклеиновых кислот (противоопухолевые);
- антибиотики, нарушающие целостность цитоплазматической мембраны (противогрибковые).

| По биологическому происхождению | По механизму действия | По спектру действия | По химическому строению |
|--|---|--|--|
| Эубактерии род <i>Pseudomonas</i> : пиоционин, вискозин | Ингибирует синтез клеточной стенки (пенициллины, цефалоспорины) | Узкого спектра (пенициллины, цефалоспорины) | Ациклические соединения (микозамин, пирозамин) |
| Актиномицеты род <i>Streptomyces</i> : тетрациклины, стрептомицины, эритромицин род <i>Micromonospora</i> : гентамицины, сизомицин | Нарушают функцию мембран (нистатин, кандицин) | Широкого спектра (тетрациклины, хлорфеникол, гентамицин, тобрамицин) | Алициклические соединения (актидион, туевая кислота). Тетрациклины |
| Цианобактерии малинголид | Подавляет синтез РНК (канамицин, неомицин) и синтез ДНК (актидион, эдеин) | Противотуберкулезные (стрептомицин, канамицин) | Ароматические соединения (галловая кислота, хлорамфеникол). Хиноны. |
| Грибы пенициллины | Ингибиторы синтеза пуринов и пиримидинов (азасерин) | Противогрибковые (нистатин, кандицин) | Кислородсодержащие гетерциклические соединения (пеницилловая кислота, карлинаоксид). |
| Лишайники, растения, водоросли усниновая кислота, хлореллин | Подавляет синтез белка (канамицин, тетрациклины, эритромицин, хлорфеникол) | Противоопухолевые (адриамицин) | Макролиды (эритромицин). |
| Животного происхождения интерферон, экмолин | Ингибиторы дыхания (усниновая кислота, пиоционин). Ингибиторы окислительного фосфорилирования (валиномицин, олигомицин). | Противоамебные (фумагиллин) | Аминогликозиды (тобрамицин, гентамицин, стрептомицины). Полипептиды (грамицидин). |

Выделяют следующие направления антимикробного действия антибиотиков:

- бактерицидное (фунгицидное) действие, вызывающее гибель бактерий и грибов (β -лактамы, аминогликозидные антибиотики);
- бактериостатическое (фунгиостатическое) действие, вызывающее задержку роста и развития бактерий и грибов (макролиды, тетрациклины, левомицетин).

В зависимости от источника получения различают 6 групп антибиотиков:

- 1. антибиотики, полученные из грибов: рода *Penicillium* – пенициллины, *Cephalosporium* – цефалоспорины и т.д.;
- 2. антибиотики, получаемые из актиномицетов – стрептомицин, эритромицин, левомицетин, нистатин и многие другие антибиотики;
- 3. антибиотики, продуцентами которых являются собственно бактерии (представители родов *Bacillus* и *Pseudomonas*);
- 4. антибиотики животного происхождения;
- 5. антибиотики растительного происхождения (фитонциды, выделяемые луком, чесноком и др.)
- 6. синтетические антибиотики.

Направления поиска антибиотиков

- Испытание новых продуцентов, например, начиная с 80-х гг. XX в. исследуются миксобактерии, продуцирующие большое количество антимикробных агентов.
- 2. Химическая модификация антибиотиков, например, противомикробные макролиды токсичны для человека: гептаен амфотерицин В, используемый при тяжелых микозах, вызывает необратимые поражения почек; были получены метиловые эфиры амфотерицина, менее токсичные и сохраняющие противогрибковую активность.
- 3. Мутасинтез. В данном случае применяют мутантные штаммы, у которых блокирован синтез отдельных фрагментов молекулы антибиотика. В среду культивирования вносят аналоги этих фрагментов. Микроорганизм использует эти аналоги для биосинтеза, в результате чего получают модифицированный антибиотик.
- 4. Клеточная инженерия. С помощью ее методов получают гибридные антибиотики, например, с новыми комбинациями агликона и сахаров.
- 5. Генетическая инженерия связана с введением в геном микроорганизма информации о ферменте, необходимом для модификации продуцируемого антибиотика, например, его метилирования с помощью метилаз.

Механизмы биосинтеза антибиотиков

Три основных обстоятельства определяют особенности биосинтеза, общие для всех антибиотиков:

- антибиотики не относятся к прямым продуктам трансляции или вообще матричного синтеза;
- антибиотики как вторичные вещества образуются из первичных метаболитов;
- биосинтез молекулы любого антибиотика происходит с участием ряда ферментов.

Координация действия ферментов

- Один из путей, доказанный на примере биосинтеза циклопептидных и некоторых других антибиотиков, связан с тем, что биосинтез или сборка антибиотической молекулы происходит в мультиферментных комплексах с упорядоченно расположенными ферментами. Первичные метаболиты «входят» в мультиферментный комплекс, в котором происходит ряд их превращений. Из комплекса «выходит» или завершённая молекула антибиотика, или её крупный фрагмент, например, специфический агликон того или иного антибиотика и т.п. При «сборке» углеродного скелета молекулы антибиотика могут происходить различные реакции: метилирование или деметилирование; карбоксилирование или декарбоксилирование; аминирование или дезаминирование.
- Предшественниками β -лактамовых антибиотиков являются аминокислоты. Началом формирования β -лактамовой молекулы является биосинтез так называемого LLD-трипептида, состоящего из трёх L-аминокислот – первичных метаболитов – L-аминоадипиновой кислоты, L-цистеина и L-валина.
- Затем LLD-трипептид превращается в моноциклический β -лактам, т.е. происходит замыкание β -лактамового кольца.
- Следующий этап связан с появлением пятичленного серусодержащего кольца, сконденсированного с β -лактамовым. Все это означает участие в биосинтезе антибиотика новых ферментов. В случае образования бензилпенициллина необходимо присутствие фенилуксусной кислоты (в активной форме), в результате чего освобождаются аминокислота и кофермент А.

Продуценты антибиотиков

- К основным этапам поиска новых антибиотиков относятся:
- - выделение микробов-антагонистов из почвы;
- - определение антагонистического спектра и активности антибиотиков;
- - подбор условий культивирования продуцентов антибиотиков;
- - выделение и химическая очистка антибиотиков;
- - изучение физико-химических и фармакологических свойств антибиотиков;
- - испытание химико-терапевтической эффективности;
- - идентификация антибиотиков.

Способностью вырабатывать антибиотики обладают не все микроорганизмы, а лишь некоторые штаммы отдельных видов. Так, пенициллин образуют некоторые штаммы *Penicillium notatum* и *Penicillium chrysogenum*, а стрептомицин – определенный штамм *Streptomyces griseus*, тогда как другие штаммы тех же видов вообще не вырабатывают антибиотики или вырабатывают, но другие.

Некоторые микроорганизмы выделяют не один, а несколько антибиотиков: так, *Pseudomonas aeruginosa* образует пиоцианазу, пиоцианин, пиолипоевую кислоту и другие пиосоединения; *Bacillus brevis* производит грамицидин и тироцидин; *P. notatum* – пенициллин и пенатин; *Aspergillus flavus* – пенициллин и аспергилловую кислоту; *Aspergillus fumigatus* – фумигатин, спинулозин, фумигацин (гельволевую кислоту) и глиотоксин; *Streptomyces griseus* – стрептомицин, маннозидострептомицин, циклогексимид и стрептоцин; *Streptomyces rimosus* – окситетрациклин и римоцидин; *Streptomyces aureofaciens* – хлортетрациклин и тетрациклин.

Продуценты антибиотиков

- 1. Неспорообразующие бактерии. Из группы бактерий, ранее называемых *Bacillus pycnosaneus*, а позднее известных, как *Pseudomonas aeruginosa*, выделены пиоцианин и пиоцианаза. Другие не образующие спор бактерии тоже вырабатывают антибиотики, сильно отличающиеся по химической структуре и антибактериальным свойствам (например, колицины, производятся различными штаммами кишечной палочки).
- 2. Спорообразующие бактерии. Многие виды спорообразующих бактерий вырабатывают различные антибиотики. Так, штаммы *Bacillus subtilis* производят бацитрацин, субтилин и др.; *B. brevis* – тиротрицин, *B. polymixa* – полимиксин (аэроспорин). Из *B. thymoides*, *B. mesentericus* и *B. simplex* выделены разнообразные, еще недостаточно изученные соединения: бациллин, колистатин и др., многие из которых препятствуют росту микроскопических грибов.
- 3. Актиномицеты. Кроме пенициллина, наиболее важные антибиотики, используемые в качестве химиотерапевтических средств, были получены из актиномицетов. К настоящему времени выделено и описано более 500 таких соединений (стрептомицин, тетрациклины, эритромицин, новобиоцин, неомицин и др.).

- 4. Микроскопические грибки представляют собой один из наиболее важных продуцентов антибиотиков, вырабатывающих цефалоспорин, гризеофульвин, микофеноловую кислоту, пенициллиновую кислоту, глиотоксин, клавацин, аспергилловую кислоту и другие соединения.
- 5. Водоросли. Многие водоросли способны вырабатывать вещества, обладающие антибиотическими свойствами, но пока ни одно из них не нашло клинического применения.
- 6. Лишайники. К антибиотикам, вырабатываемым лишайниками, относятся лихенин и усниновая кислота.
- 7. Высшие растения. Высшие зеленые растения также образуют антибактериальные вещества, сходные по своим свойствам с истинными антибиотиками. К ним относятся фитонциды – аллицин, томатын и др.
- 8. Животные. Среди продуктов животного происхождения, обладающих антибактериальными свойствами, важное место занимает лизоцим. Кроме того, многие простейшие, личинки насекомых и некоторые другие животные могут переваривать живые бактерии и грибки. Однако, пока не выяснено, в какой степени эта способность связана с выработкой веществ, обладающих антибиотическими свойствами.

Общая биотехнологическая схема производства антибиотиков

- Различают три способа получения антибиотиков.
- *Биологический синтез.* Для получения антибиотиков данным способом используют штаммы микроорганизмов, образующие наибольшее количество антибиотика, а также специальные питательные среды.
- *Химический синтез* является основным методом получения синтетических антибиотиков.
- *Комбинированный способ* представляет собой сочетание двух предыдущих способов: из полученного в результате биологического синтеза антибиотика выделяют так называемое ядро (например, б-аминопенициллановую кислоту из пенициллина) и химическим путем добавляют к нему различные радикалы. Антибиотики, полученные комбинированным способом, называются полусинтетическими (метициллин, оксациллин и др.), к которым более длительное время чувствительны микроорганизмы, устойчивые к природным антибиотикам. Кроме того, комбинированный способ является наиболее экономически выгодным методом производства антибиотиков. В частности, из одного природного антибиотика, стоимость получения которого очень высока, можно создать примерно 100 полусинтетических лекарственных препаратов с разными свойствами.

Пути повышения выхода антибиотиков

- Прямая ферментация продуцента с подходящим предшественником. Это индуцирует биосинтез ферментов вторичного метаболизма в идиофазе.
- Биосинтез антибиотиков с применением блокированных мутантов, у которых отсутствует определенное звено в цепи реакций, ведущих к синтезу антибиотиков. Блокированные мутанты не способны образовывать нужный антибиотик. Используя низкую субстратную специфичность ферментов вторичного метаболизма, и вводя аналоги предшественников антибиотиков, последние переводят в аналоги самого антибиотика в ходе процесса, известного как *мутационный биосинтез (мутасинтез)*. Так, мутанты *Nocardia mediterranei*, у которых нарушена способность к ацилированию, образуют аналог предшественника рифампицина В – рифампицин SV, служащий исходным веществом для получения многих синтетических рифампицинов.
- 3. Пути создания высокоактивных штаммов продуцентов антибиотиков с помощью рекомбинантной ДНК биотехнологии.

Общая схема промышленного биотехнологического производства антибиотиков

- **подготовка питательной среды** (среда должна обеспечивать максимальное накопление клеток и синтез антибиотиков, содержать дешевые и доступные компоненты, обеспечивать экономичные приемы выделения и очистки, обладать хорошей фильтрующей способностью). В технологии получения антибиотиков путем культивирования микроорганизмов возможно применение твердых питательных сред: с этой целью применяют агаризованные или сыпучие субстраты (пшено, ячмень, пшеничные отруби и т.п.) и жидких питательных сред.

Общая схема промышленного биотехнологического производства антибиотиков

- Условия синтеза антибиотиков:
- *Стерильность.*
- Развитие посторонней микрофлоры опасно во многих отношениях:
- Посторонняя микрофлора, развиваясь в питательной среде, видоизменяет ее и тем самым нарушает оптимальные условия биосинтеза, что уменьшает уровень накопления антибиотика.
- Наличие посторонней микрофлоры затрудняет дальнейшую обработку культуральной жидкости, отделение ее от мицелия и приводит к получению некачественного нативного раствора.
- Продукты жизнедеятельности посторонних микроорганизмов могут загрязнять получаемый антибиотик и снижать ее качество.

Общая схема промышленного биотехнологического производства антибиотиков

- *Питательная среда.* К источникам азота относятся – аминокислоты, аммонийные соли и иногда нитраты; к источникам углерода – глюкоза и лактоза, также в питательной среде должны присутствовать такие элементы как сера, магний, марганец, железо, цинк, кобальт.
- *Значение рН среды.* Для бактерий рН питательной среды составляет приблизительно 7, для грибов – 4,5–5, для актиномицетов – 6,7–7,5.
- *Температура.* В процессе ферментации вследствие интенсивно протекающих процессов выделяется значительное количество тепла, поэтому для поддержания оптимальной температуры необходимо постоянное охлаждение среды.
- *Перемешивание и аэрация.* Так как продуценты антибиотиков являются аэробами, следовательно, требуется создать при их синтезе хорошую аэрацию. Кислород необходим для биосинтеза ряда антибиотиков, т.к. последний расходуется при замыкании β -лактамного и тиазолидинового колец во время биосинтеза β -лактамной структуры
- *Вспенивание.* Питательные среды, применяемые при получении антибиотиков, содержат вещества, способные образовывать весьма стойкие пены. Эти вещества могут образовываться в процессе ферментации. Аэрация и перемешивание среды вызывают образование слоя пены на поверхности жидкости, что ухудшает условия развития продуцента.

Общая схема промышленного биотехнологического производства антибиотиков

- **Подготовка посевного материала** (продуценты-мутанты → колба на качалке → первый инокулятор (10 л) → второй инокулятор (100-500 л) → ферментер).
- **Ферментация** (для получения антибиотиков используют методы поверхностного и глубинного культивирования). Современная ферментационная установка состоит из нескольких небольших емкостей ферментеров для инокуляции (получения посевного материала) и ферментера большого размера (от 1 л до 1000 м³) для проведения конечной стадии получения целевого продукта. Эти емкости соединены между собой с помощью фиксированных трубопроводов или гибких шлангов. В ферментерах часто используют механическое перемешивание. Кроме того, ферментационные установки могут включать в себя установки для обработки сырья, емкости для приготовления питательной среды, оборудование для непрерывной стерилизации или варочные котлы, установки для получения пара высокого давления и больших объемов стерильного воздуха для аэробной ферментации.

Общая схема промышленного биотехнологического производства антибиотиков

- **Выделение антибиотиков.** Локализация антибиотика, а также сфера его применения определяют специфику приемов постферментационной стадии. Если антибиотик находится в клетках, на первом этапе обработки биомассу выделяют из культуральной жидкости (фильтрацией или центрифугированием); далее после разрушения клеток антибиотик экстрагируют и переводят в растворимую фазу.
- Цель всех процедур постферментационной стадии – получение стерильных препаратов высокой степени чистоты. Особенно высокие требования предъявляют к антибиотикам медицинского назначения. Поэтому выделение, очистка, концентрирование, высушивание, а также расфасовка и упаковка медицинских антибиотиков осуществляются в асептических условиях.

Общая схема промышленного биотехнологического производства антибиотиков

- **Очистка антибиотиков.** Данная стадия технологического процесса включает в себя следующие этапы: осаждение, сорбция, сушка.
- При очистке антибиотиков широко используются ионообменные смолы (катиониты и аниониты). Особое значение эти сорбционные методы сыграли в свое время в решении проблемы получения в высокоочищенном виде аминогликозидных антибиотиков – стрептомицина и других, имеющих свойства оснований.
- При обезвоживании препаратов антибиотиков в зависимости от свойств антибиотика используют лиофильную или распылительную сушку. В последнем случае раствор антибиотика распыляется из форсунок до частиц диаметром 5 – 25 мкм в токе нагретого 160 °С воздуха. Сушка происходит в течение долей секунды. Затем препарат фасуют в стерильные флаконы с соблюдением условий, гарантирующих стерильность.

Общая схема промышленного биотехнологического производства антибиотиков

- *Получение готового продукта* (упаковка, фасовка).
- При радиационной стерилизации (в минимальных дозах) загрязняющие препарат микроорганизмы теряют способность к размножению и гибнут вследствие повреждения ДНК (происходят сшивки между нуклеотидами, а также разрывы ДНК).
- При термической стерилизации в отличие от радиационной происходит денатурация многих белков клетки, в результате чего ее повреждения становятся более многочисленными; при стерилизации путем мембранной фильтрации микробные клетки не погибают, а удаляются из лекарственного препарата.
- Радиационная стерилизация используется на отдельных производствах в виду объективных трудностей при внедрении технологии получения нового препарата, а иногда и по экономическим причинам. Установлено, что стерилизующая доза ионизирующего облучения составляет 2,5 Мрад. Установка для стерилизации ампул и флаконов используются быстрые электроны. Проникающая способность электронов, разогнанных до разрешаемого для стерилизации лекарственного средства показателя невелика. Электроны не могут «пронзить» несколько рядов флаконов или ампул. Чтобы набрать стерилизующую дозу 2,5 Мрад, требуются секунды или доли секунд. Поэтому флаконы подают по одному с помощью транспортера к соответствующему «окошку», через которое в них набирается стерилизующая доза. После выключения такая стерилизационная установка становится абсолютно безопасной в радиационном отношении.