
PRODUCTION OF ANTIBIOTICS

انتاج المضادات الحيوية

Some Antibiotics produced by Microorganisms

امثلة لبعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الاحياء المجهرية

Antibiotic

Producing microorganism

Cephalosporin

Cephalosporium acrimonium عفن

Chloramphenicol

Streptomyces venezuelae / بكتريا

Erythromycin

Streptomyces erythreus

Griseofulvin

Penicillium griseofulvin عفن

Penicillin

Penicillium chrysogenum عفن

Streptomycin

Streptomyces griseus بكتريا

Tetracycline

Streptomyces aureofaciens بكتريا

Gentamicin

Micromonospora purpurea بكتريا

Thanks to work by Alexander Fleming (1881-1955), Howard Florey (1898-1968) and Ernst Chain (1906-1979), penicillin was first produced on a large scale for human use in 1943. At this time, the development of a pill that could reliably kill bacteria was a remarkable development and many lives were saved during World War II because this medication was available.

شكرا للعمل الذي قام به الكسندر فلمنك والعالمين الاخرين (اعلاه) .

□ فان البنسلين انتج على مجال واسع للاستعمال البشري في عام ١٩٤٣ .

□ في ذلك الوقت فان تطور الادوية استطاع قتل البكتريا المرضية ،لذا كثير من الارواح

انقذت خلال الحرب العالمية الثانية بسبب توفر هذه الادوية.



A. Fleming



E. Chain

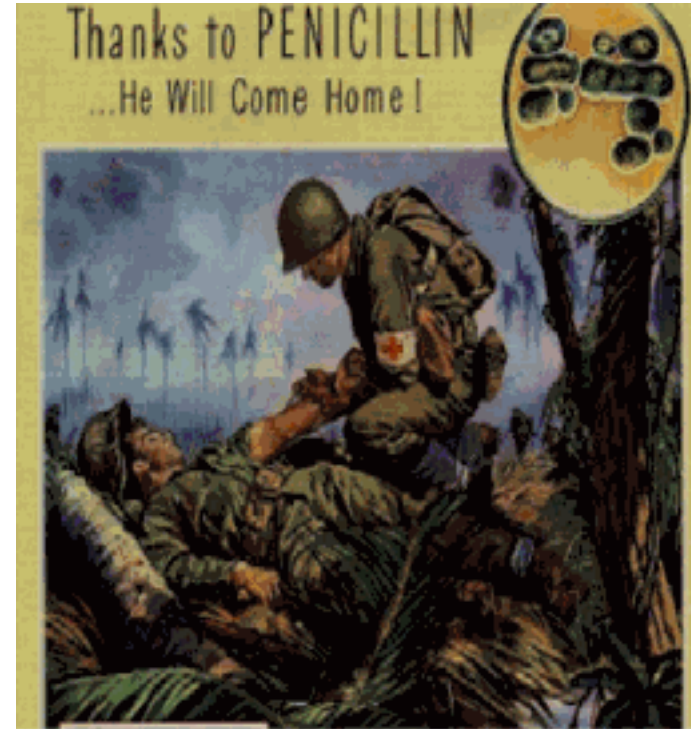


H. Florey

PRODUCTION OF PENICILLIN

- During world war II- importance realized, as penicillin had been used to treat many wounded soldiers.

■ خلال الحرب العالمية الثانية
برهن اهمية استعمال البنسلين
لمعالجة كثير من جنود الحرب
الجرحي .



A tale by A. Fleming

القصة التي ذكرها الكسندر فلمنك

- In 1928, Sir Alexander Fleming, a Scottish biologist, observed that *Penicillium notatum*, a common mold, had destroyed staphylococcus bacteria in culture.

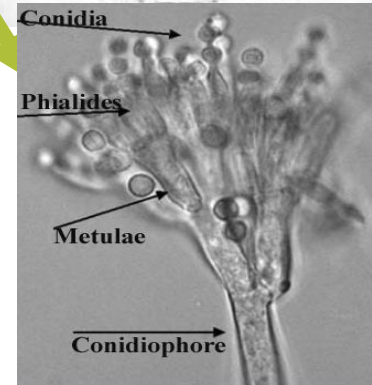
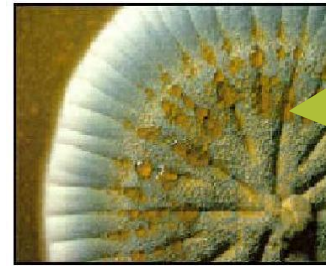
- في عام ١٩٢٨ السيد فلمنك وهو بايولوجي سكوتلاندي، لاحظ بان عفن *Penicillium notatum* قد حطم او قتل مزرعة بكتريا *staphylococcus*

A tale by A. Fleming

التجربة المخبرية

- He took a sample of the mold from the contaminated plate. He found that it was from the *Penicillium* family, later specified as *Penicillium notatum*. Fleming presented his findings in 1929, but they raised little interest. He published a report on penicillin and its potential uses in the *British Journal of Experimental Pathology*.

■ اخذ Fleming عينة عفن من طبق ملوث والذي شخص لاحقا بانه عفن *Penicillium notatum* ووضعها على طبق فية مزرعة بكتريا Staph. (الطبق الاسود) وبعد فترة التحضين لاحظ قتل مستعمرات البكتريا حول مستعمرة العفن. فلمنك نشر النتيجة المهمة التي وجدها قبل عام في مجلة *British Journal of Experimental Pathology* وذلك في عام ١٩٢٩



More Info. Of Penicillin

معلومات اضافية عن البنسلين

- All penicillin like antibiotics inhibit synthesis of peptidoglycan, an essential part of the cell wall.

■ جميع مضادات البنسلين تثبط تخليق الببتايدوكلاكون وهو جزء مهم في الجدار الخلوي

- They do not interfere with the synthesis of other intracellular components.

■ وهي لا تتداخل مع تخليق المكونات الخلوية الأخرى

- These antibiotics do not affect human cells because human cells do not have cell walls.

■ ** هذه المضادات لا تؤثر على خلايا الإنسان ، لان خلايا الإنسان لا تمتلك جدار خلوي

Spectrum of Activity

مجالات الفعالية للبنسلين

- Penicillins are active against Gram positive bacteria

****البنسلينات فعالة ضد البكتريا الموجبة لكرام**

Some members (e.g. amoxicillin) are also effective against Gram negative bacteria but not *Pseudomonas aeruginosa*

**** بعض الانواع من مضادات البنسلين مثل (amoxicillin)**

ايضا فعالة ضد البكتريا السالبة لكرام لكن لا تؤثر على بكتريا

Pseudomonas aeruginosa

PRODUCTION OF PENICILLIN

Penicillin was the first important commercial product produced by an aerobic, *submerged* fermentation

*البنسلين كان اول اهم المنتجات التجارية التي تنتج بالتخميرات الهوائية الغاطسة

□ First antibiotic to have been manufacture in bulk.

وهو اول المضادات الحيوية التي صنعت بكميات كبيرة

□ Used as input material for some semi synthetic antibiotics.

وهو يستعمل كمادة اولية لتخلق مضادات شبة صناعية

□ It is fermented in a **batch culture**

وهو يخمر بطريقة الوجدبات

When penicillin was first made at the end of the second world war using the fungus *Penicillium notatum*, the process made 1 mg dm^{-3} .

عندما صنع البنسلين في البداية (نهاية الحرب العالمية الثانية) من

عفن *Penicillium notatum* كانت إنتاجيته (1 mg dm^{-3})

■ Today, using a different species (*P. chrysogenum*) and a better extraction procedures the yield is 50 g dm^{-3} .

■ في الوقت الحاضر ، يستعمل نوع اخر من عفن البنسلين وهو

■ *P. chrysogenum* وإنتاجيته ازدادت لتصبح 50 g dm^{-3}

■ وتوجد There is a constant search to improve the yield. حالياً بحوث مستمرة لزيادة الانتاجية

The yield of penicillin can be increased by:

انتاجية البنسلين يمكن ان تزداد بالطرق التالية :

- Improvement in composition of the medium

■ ١- التقدم او التحسين في مكونات الوسط الزراعي

- Isolation of better penicillin producing mold sp. *Penicillium chrysogenum* which grow better in huge deep fermentation tank

■ ٢- عزل احسن نوع من جنس البنسلين وهو *Penicillium chrysogenum* وهذا يمكنه النمو افضل في الخزانات الكبيرة والعميقة

- Development of submerged culture technique for cultivation of mold in large volume of liquid medium through which sterile air is forced.

■ ٣- التطور في تقنية المزارع الغاطسة لزراعة الاعفان باحجام كبيرة في المزارع السائلة وضخ الهواء المعقم ، هذه العوامل تسهم في زيادة الانتاجية

Primary and Secondary Metabolites

- **Primary metabolites** are produced during active cell growth, and **secondary metabolites** are produced near the onset of stationary phase.

■ **المنتجات الايضية الاساسية** تنتج خلال نمو الخلايا النشط (**Log Phase**) ، بينما **المنتجات الايضية الثانوية** تنتج خلال مرحلة الـ (**stationary phase**) مثل **المضادات الحيوية** .

Commercial Production Of Penicillin

- Like all antibiotics, penicillin is a secondary metabolite, so it is only produced in the stationary phase.

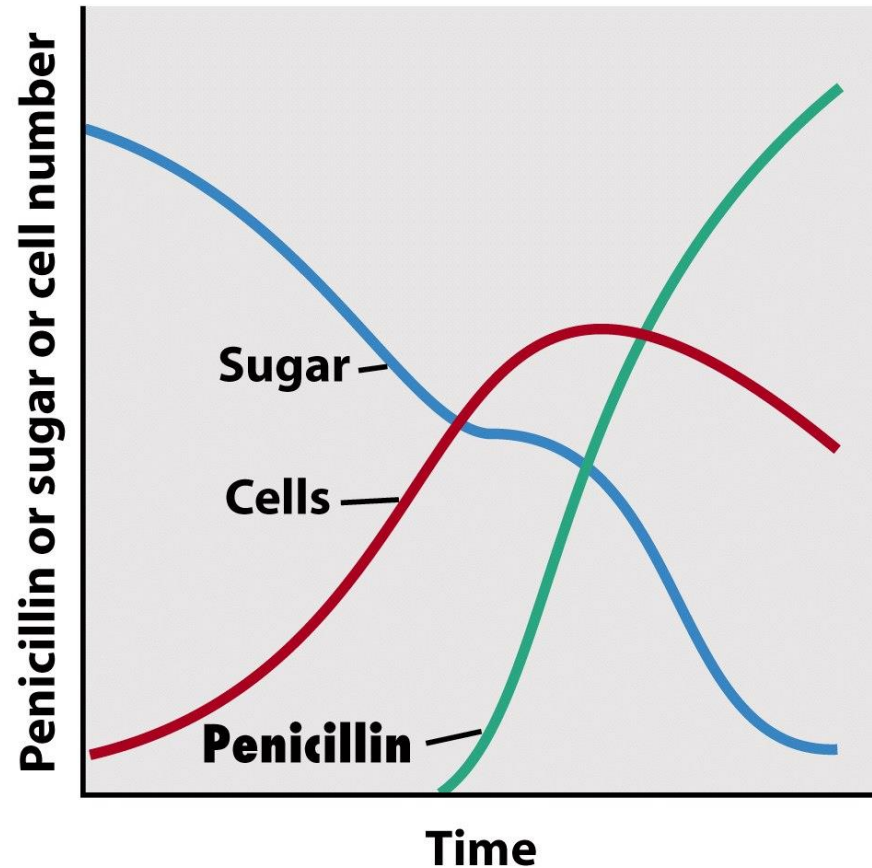


Figure 30-2b Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

INDUSTRIAL PRODUCTION OF ANTIBIOTIC- PENICILLIN

الانتاج الصناعي للبنسلين

- The industrial production of penicillin was broadly classified in to two processes namely,
- الانتاج الصناعي للبنسلين بشكل واسع يوضع ضمن عمليتين تسمى
- **Upstream processing** عملية تصاعدية
- **Downstream processing** عملية تنازلية

UPSTREAM PROCESSING

العملية التصاعديّة

- Upstream processing encompasses any technology that leads to the synthesis of a product. Upstream includes the exploration, development and production.
- تشمل هذه الطريقة ، اي تقنية تقود لتصنيع المنتج . هذه الطريقة تشمل ، الاكتشاف والتطور والانتاج

DOWNSTREAM PROCESSING

العملية التنازلية

- The extraction and purification of a biotechnological product from fermentation is referred to as downstream processing.
- هذه الطريقة تشمل الاستخلاص والتقية للمنتج المتخمر لهذه التقنية الحيوية والتي يطلق عليها العملية التنازلية

UPSTREAM PROCESSING

العملية التصاعديّة وتشمل :

INOCULUM PREPARATION تحضير اللقاح**

- The medium is designed to provide the organism with all the nutrients that it requires.

■ الوسط الزراعي يصمم لتجهيز الكائن الحي بكل مغذياته التي يحتاجها

- Inoculation method- submerged technique

■ طريقة التلقيح تكون من خلال تقنية الغاطس

- Spores -major source of inoculum

■ السبورات هي المصدر الرئيسي للتلقيحة

RAW MATERIALS المواد الخام

- **CARBON SOURCES:** مصدر الكربون

Lactose acts as a very satisfactory carbon compound, provided that is used in a concentration of 6%. Others such as glucose & sucrose may be used.

اللاكتوز يكون هو المصدر المقنع كمصدر للكربون ويستعمل بتركيز ٦% ، وغير ذلك التي يمكن ان تكون الكلوكوز والسكروز

- **NITROGEN SOURCES:** مصدر النايروجين

- Corn steep liquor (CSL) Ammonium sulphate and ammonium acetate can be used as nitrogenous sources.

مستخلص الذرة وسلفات واخلات الامونيوم تكون مصدر للنايروجين

• MINERAL SOURCES: مصدر المعادن

Elements namely potassium, phosphorus, magnesium, sulphur, zinc and copper are essential for penicillin production. Some of these are applied by corn steep liquor.

مصادر المعادن : وخصوصا البوتاسيوم والفسفور والمغنيسيوم والكبريت
والزنك والنحاس ، هي عناصر مهمة لانتاج البنسلين ، بعض هذه
العناصر يحتويها مستخلص الذرة

Calcium can be added in the form of chalk to counter the natural
acidity of CSL

الكالسيوم : يضاف بصيغة الطباشير ليعادل الحموضة الطبيعية لمستخلص

FERMENTATION PROCESS

خطوات عملية التخمير

- The medium is inoculated with a suspension of conidia of *Penicillium chrysogenum*.
الوسط الزراعي يلقح بمعلق من كونيدات العفن *P. chrysogenum*
- The medium is constantly aerated and agitated, and the mould grows throughout as pellets.
الوسط باستمرار يضح به الهواء ويقلب، والعفن يستمر نموه بشكل الحبيبات
- After about seven days, growth is complete, the pH rises to 8.0 or above, and penicillin production ceases
بعد مرور سبعة ايام لعملية التخمير، فان النمو يكتمل، والـ PH يرتفع الى 8.0 او اعلى، حينها انتاج البنسلين يتوقف

STAGES IN DOWNSTREAM PROCESSING

مراحل العملية النازلة

Removal of cells

ازالة الخلايا

- The first step in product recovery is the separation of whole cells and other insoluble ingredients from the culture broth by technique such as filtration and centrifugation.

اول خطوة في تحصيل الناتج ، هو عملية الفصل لكل الخلايا وبقية المكونات غير الصلبه من وسط الزرع السائل بواسطة الفلتره او الطرد المركزي

ISOLATION OF BENZYL PENICILLIN

خطوات عزل بنزيل البنسلين

- The PH is adjusted to 2-2.5 with the help of phosphoric or sulphuric acids.
١ - تعديل الـ PH الى ٢-٢.٥ بمساعدة حامض الفسفوريك

- In aqueous solution at low PH values there is a partition coefficient in favor of certain organic solvents such as butyl acetate.

٢- في محلول مائي حامضي عند PH منخفض يكون معامل الفصل افضل في المحاليل العضوية مثل خلات البيوتاييل

This step has to be carried out quickly for penicillin is very unstable at low PH values.

٣- هذه الخطوه يجب ان تنجز بسرعة لكون البنسلين غير مستقر في الوسط الحامضي

Antibiotic is then extracted back into an aqueous buffer at a PH of 7.5, the partition coefficient now being strongly in favor of the aqueous phase. The resulting aqueous solution is again acidified & re-extracted with an organic solvent.

٤- المضاد الحيوي يستخلص بأرجاعه لمحلول منظم على (PH ٧.٥) ، معامل التقسيم الان يكون اقوى لصالح الطور المائي، والطور المائي يحمض ويستخلص مع مذيب عضوي

These shifts between the water and solvent help in the purification of penicillin.

٥- هذه التحولات بين الماء والمذيب تساعد على تنقية البنسلين

The treatment of the crude penicillin extract varies according to the objective, but involves the formation of an appropriate penicillin salt.

٦- معاملة المنتج الخام لمستخلص البنسلين يختلف حسب الغرض المطلوب، لكن يمكن ان يستخدم كملح مناسب للبنسلين

- The solvent extract recovered in the previous stage is carefully extracted back with aqueous sodium hydroxide.

٧- مستخلص المذيب المتحصل من المرحلة السابقة يعاد استخلاصه بعناية مع هيدروكسيد الصوديوم المائي

This is followed by charcoal treatment to eliminate pyrogens and by sterilization.

٨- يتبع هذه الخطوة المعاملة بالفحم لازالة البيروجين (سموم البكتريا تسبب ارتفاع درجة حرارة الجسم) ويعقم المستخلص

Pure metal salts of penicillin can be safely sterilized by dry heat, if desired. Thereafter, the aqueous solution of penicillin is subjected to crystallization.

٩- الملح المعدني النقي للبنسلين يمكن ان يعقم بالحرارة الجافة. بعد ذلك فان المحلول المائي للبنسلين يعرض للبلورة

FURTHER PROCESSING

خطوات اضافية

- For parental use, the antibiotic is packed in sterile vials as a powder or suspension.

■ للاستعمالات الوريدية ، فان المضادات الحيوية تعبأ في قناني معقمة كمسحوق او معلق

- For oral use, it is tabletted usually now with a film coating.

■ للاستعمال الفموي ، تصنع حبوب مغلقة باغلفة رقيقة

- Searching tests (ex: for purity, potency) are performed on the appreciable number of random samples of the finished product.

■ لبحث اختبارات النقاوة يمكن ان تجرى على عدد عشوائي من عينات المنتج النهائي

- It must satisfy fully all the strict government standards before being marketed

■ المنتج يجب ان يخضع لمقاييس الحكومة (الصحة) قبل توزيعه للاسواق

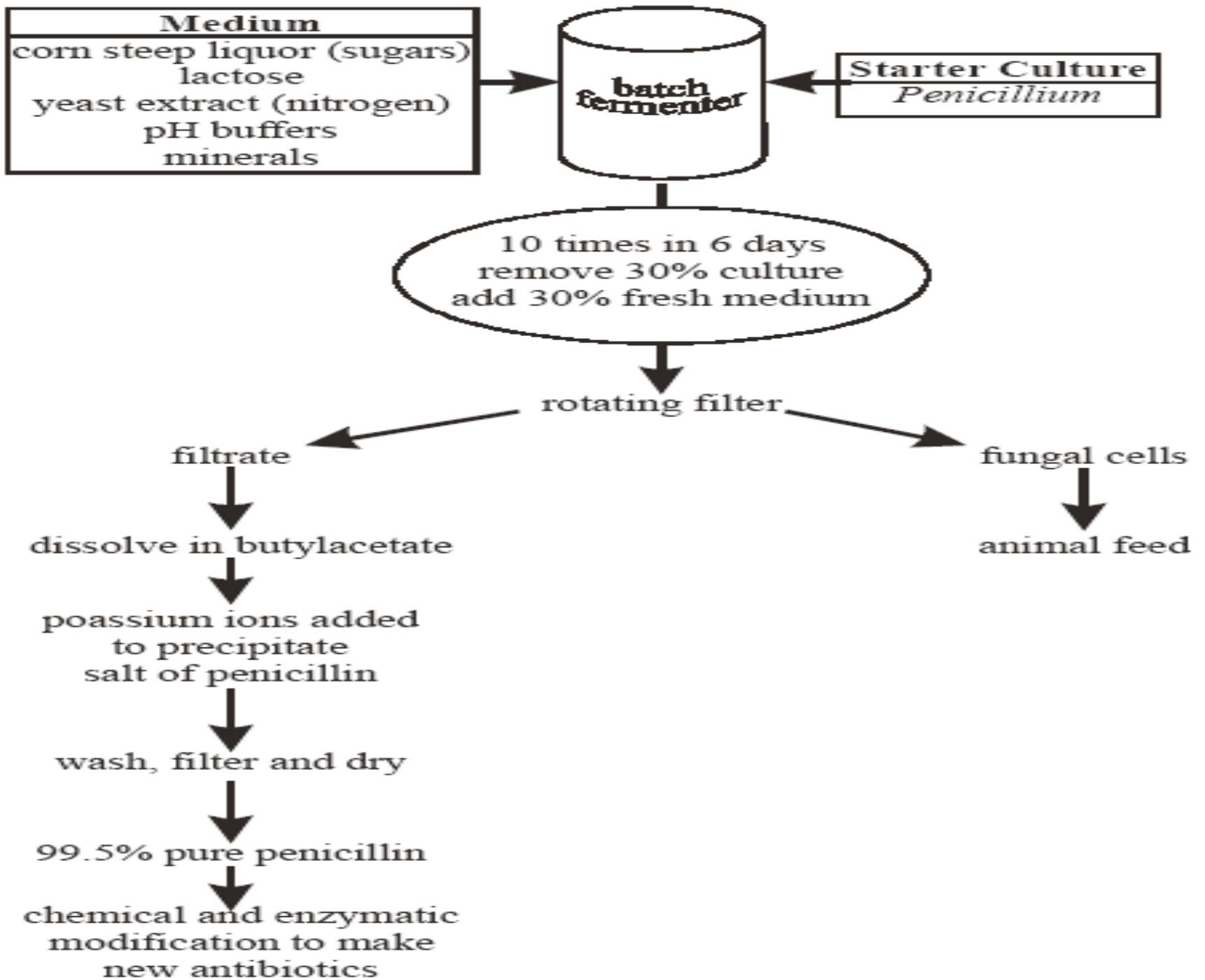
The main stages of Penicillin production are:

المراحل الرئيسية لإنتاج البنسلين :

- 1 A medium of corn steep liquor (a by product of starch manufacture), yeast extract and others substrates added to the fermenter.
- 2 After 40 hours, Penicillin begins to be secreted by the fungus
- 3 The mould mycellium (cell matter) is filtered from the harvested product.
- 4 Penicillin is extracted in the organic solvent: butylacetate, in which it dissolves.
- 5 Potassium salts are added and a penicillin precipitate is formed, this is washed and dried.

المراحل الرئيسية لإنتاج البنسلين :

- 1- يضاف الوسط السائل لمستخلص الذرة (وهو المنتج الثانوي لصناعة نشاء الذرة)
بالإضافة لمستخلص الخميرة ومكونات البيئة الأخرى تضاف الى وعاء التخمر.
- 2- بعد ٤٠ ساعة من التخمر، يبدأ البنسلين بالافراز من قبل العفن
- 3- تفصل خيوط الفطر (Mycellium) عن الناتج السائل بالفلتره.
- 4- البنسلين يستخلص في المذيب العضوي (**Butyl acetate**) الذي يكون البنسلين ذائب فيه.
- 5- يضاف ملح البوتاسيوم لمحلول المذيب العضوي الحاوي على البنسلين ، عندها يتكون راسب البنسلين، ويغسل هذا الراسب ثم يجفف .



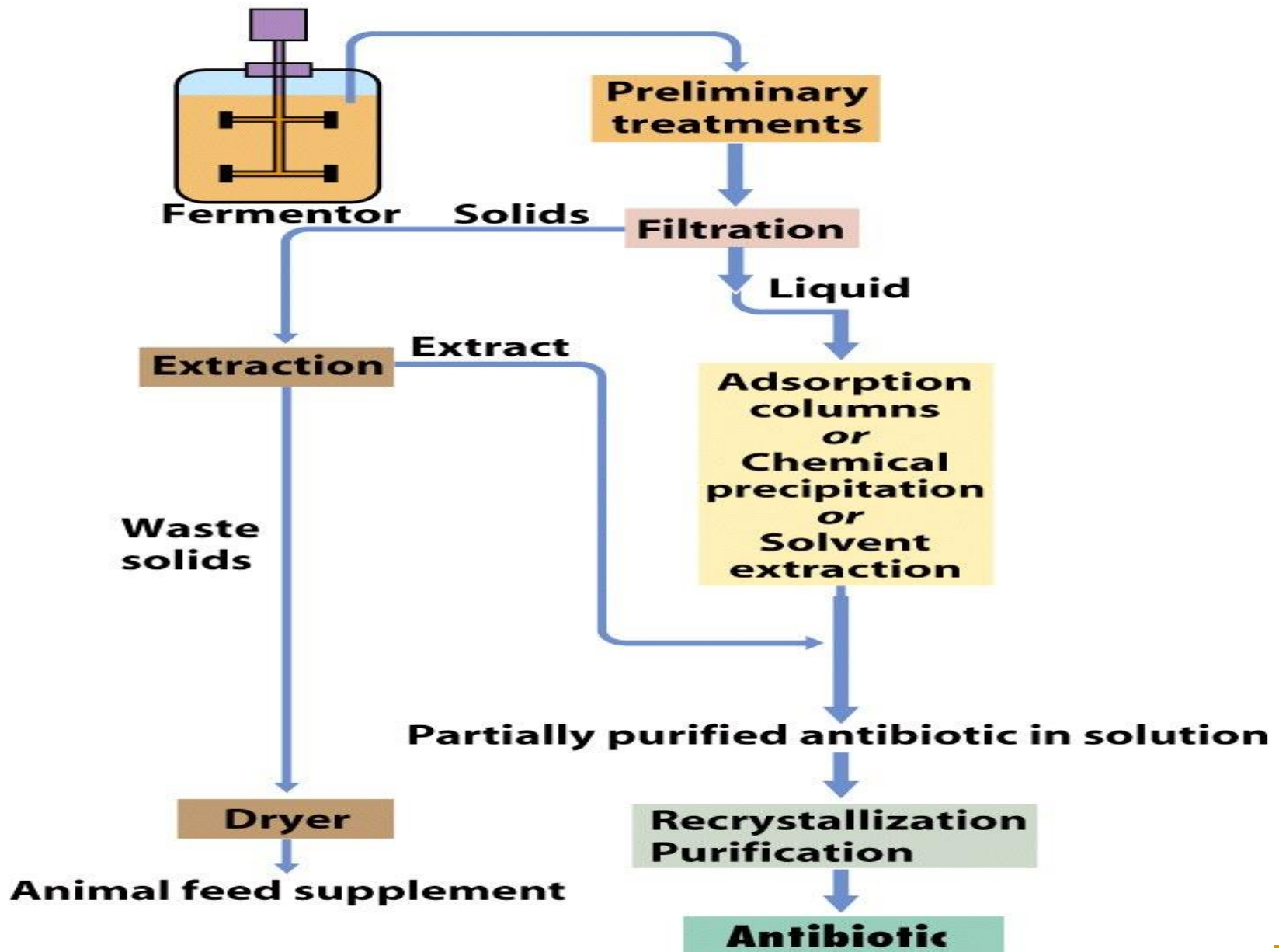


Figure 30-8a Brock Biology of Microorganisms 11/e
 © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.