

Františka Palečková a Jaromír Šlechta:

Biosynthesa allylmerkaptomethyl-penicilinu.

(Výzkumný ústav antibiotik, Roztoky u Prahy.)

Nepříjemnou skutečností při terapii penicilinu je výskyt určitého procenta pacientů alergických na penicilin G. Jednou z cest, jak lze zabránit vzniku alergických reakcí při léčbě penicilem, je použití O-penicilinu, t. j. allylmerkaptomethyl-penicilinu. Tento penicilin vzniká biosyntheticky při prekursorování allylmerkaptooctovou kyselinou (1, 2, 3).

Z předběžně otestovaných syntetických půd jsme pro naši práci vybrali půdu Singhovu (4). Na této půdě byl testován kmen *Penicillium chrysogenum* Q 176 a nepigmentující 47-1564/53 při dávkování prekursoru 0,01—0,05 %. Bylo zjištěno, že pro produkci vyhovuje kmen Q 176 a optimálních výsledků je dosaženo při prekursorování 0,04 % allylmerkaptooctové kyseliny neb ekvivalentním množstvím allylmerkaptooctanu sodného. O asimilaci prekursoru jsme se přesvědčovali srovnáváním s neprekursorovanou půdou; na syntetické půdě s kmenem Q 176 při prekursorování 0,05 % allylmerkaptooctanu sodného činila produkce 242 % neprekursorované kontroly. Fermentováno bylo jednostupňově za obvyklých podmínek na reciproké třepačce. Stanovení jednotek a chromatografické analýsy byly prováděny normálním způsobem na *Bacillus subtilis* SDPC 1—220.*) Dále bylo testováno vhodné složení corn-steepové půdy, při čemž původní množství laktosy (2 %) zůstávalo nezměněno a množství corn-steepu se pohybovalo v rozmezí 3—1 %. Prekursoru bylo použito jako při půdách syntetických. Vyrovnané a optimální výsledky dávala půda složení: 2 % corn-steepu, 2 % laktosy, 0,2 % CaCO_3 a to 190 % kontroly (271 j/ml).

Z chromatografických výsledků je patrné zvýšené procento G-penicilinu (38 % kontroly proti 63 % z půdy prekursorované). Jelikož však při prekursorování allylmerkaptooctovou kyselinou není důvodu pro zvyšování procenta benzyl-penicilinu, je možno mít za to, že zvýšení přísluší allylmerkaptomethyl-penicilinu.

Laboratorní výsledky byly přeneseny do poloprovozního měřítka. Schema fermentace však bylo z technických důvodů odlišné od normálního postupu. Bylo fermentováno dvoustupňově: spory—očkovací tank—produkční tank. Tento postup byl ověřen srovnáním produkce jako vyhovující. Složení půdy bylo převzato z laboratoře, prekursorování sodnou solí allylmerkaptooctové kyseliny bylo prováděno obdobně jako při normálním prekursorování fenylacetamidem, t. j. 5 dávek v pravidelných intervalech během fermentace. Množství allylmerkaptooctové kyseliny bylo voleno ekvivalentní fenylacetamidu. Fermentace na této půdě a za těchto podmínek byly atypické a vý-

*) Biologické stanovení jednotek provedl J. Hess se sp., chromatografická stanovení J. Bialá.

těžky ve srovnání s fermentacemi prekursorovanými fenylacetamidem byly nízké. Domnívali jsme se, že tyto výsledky by mohly být způsobeny změněným poměrem N : C. Upravili jsme proto půdu tak, že úměrně se snížením obsahu corn-steepu jsme snížili i obsah laktosy. Kontrolní fermentace na této „zředěné půdě“ s prekursorem fenylacetamidem dávaly v průměru tytéž výtěžky jako na půdě normální. Prvá fermentace O-penicilinu na takto upravené půdě byla uspokojivá, produkce dosáhla cca 60 % kontrolní fermentace G-penicilinu. Další fermentace O-penicilinu byly však postupně nižší, což bylo vysvětlováno tím, že nevhodným skladováním allylmerkaptooctové kyseliny vznikají patrně toxické látky. Domněnka byla ověřena fermentací, kde byl použit čerstvě přdestilovaný prekursor a produkce dosáhla cca 80 % kontroly. V nafermentovaných půdách byl stanoven O-penicilin chromatograficky; obsah O-penicilinu se pohyboval mezi 60—90 %, souzeno z velikosti inhibičních zon v místě benzylo-penicilinu.

Provedenými pokusy bylo získáno nezbytné množství preparátu pro klinické zkoušky.

Literatura.

1. — — : Antibiotics; Penicillin O, *Man. Chem.* 25 : 259—260 (1954).
2. Behrens O. K. se sp.: Biosynthesis of Penicillins. IV. New crystalline biosynthetic Penicillins. *J. Biol. Chem.* 175 : 793—807 (1948).
3. Ford J. H. se sp.: Penicillin O. *Antib. & Chemoth.* 3 : 1149—1153 (1953).
4. Singh K. se sp.: Evaluation of Precursors for Penicillin. *J. Bact.* 56 : 339—355 (1948).

Jan Nečásek a František A. Lokvenec

Laboratorní fermentace oxytetracyklinu.

(Výzkumný ústav antibiotik, Roztoky u Prahy)

Oxytetracyklin (obchodní značka Terramycin) je kromě druhu *Streptomyces rimosus* (1) produkován také druhem *Streptomyces platensis* (2), *Streptomyces griseoflavus* (3) a *Streptomyces armillatus* (4). Další z popsaných produkčních kmenů S. 942 (5) je pravděpodobně totožný s druhem *Streptomyces armillatus*. Specifikace těchto druhů a kmenů je značně pochybná.

Podle údajů patentové literatury je fermentace oxytetracyklinu prováděna obdobně jako fermentace ostatních antibiotik z aktinomycet na půdách základního složení glukosa-sojová mouka nebo olej-sojová mouka.

Pro výzkum a vývoj fermentace oxytetracyklinu jsme zvolili kmen *Streptomyces rimosus* 0—4. Ze širokého souboru sporulačních půd se v zásadě osvědčil masopeptonový agar s uhlodrátem a Emersonův agar. Na prakticky všech ostatních, jiných kultivačních půdách, se kterými jsme pracovali, docházelo sice k dobrému nárůstu, ale nikoliv ke sporulaci. Prozatím dáváme přednost masopeptonovému agaru s 1 % laktosy. Sporulační schopnost našeho kmene je na této půdě mimořádně citlivá na kvalitu surovin použitých k její