

TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA HÀ NỘI
Viện công nghệ sinh học & công nghệ thực phẩm.



Kháng sinh: **LINCOSAMIDES**

GVHD: TS. Phạm Tuấn Anh

SVTH: Nguyễn Thị Thảo - 20123535

Đỗ Văn Giáp - 20123034

Nội Dung:

Giới thiệu về nhóm kháng sinh Lincosamides

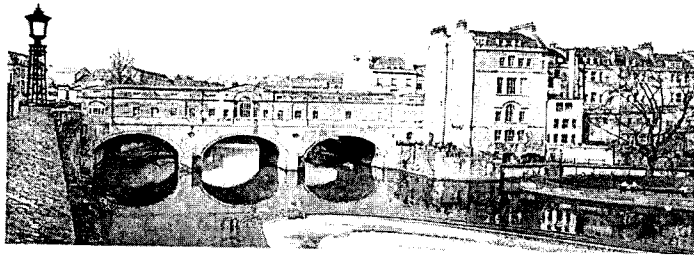
- Cấu tạo và phân loại
- Cơ chế tác dụng của kháng sinh lincosamides
- Cơ chế kháng kháng sinh
- Phổ kháng khuẩn
- Dược động học

Lên men sản xuất

- Lên men sinh tổng hợp Lincomycin
- Tinh chế
- Một số sản phẩm.

Giới thiệu về nhóm Lincosamides

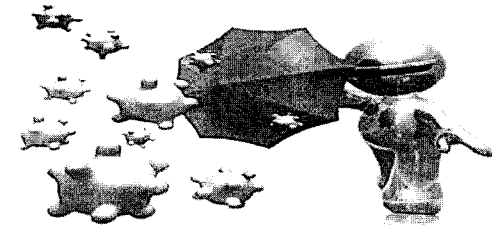
- Là nhóm kháng sinh phổ hẹp, được tìm ra năm 1962, phân lập từ *Streptomyces lincolnensis* trong một mẫu đất từ Lincoln – Anh Quốc.
- Là loại kháng sinh gắn liền với bệnh viêm đại tràng giả mạc.

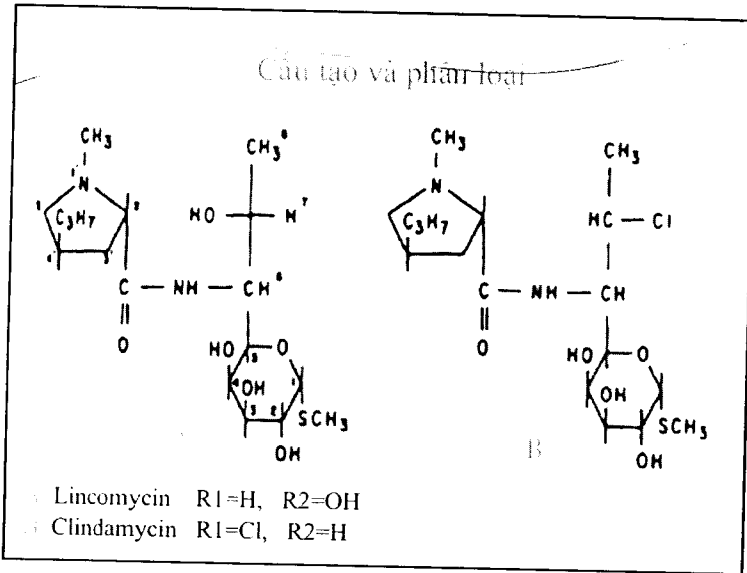


Vai trò

Tác dụng tốt với vi khuẩn gram (+), một số ít gram (-) Nên nó có tác dụng kiềm khuẩn và diệt khuẩn

Lincosamide được sử dụng để điều trị *Staphylococcus* và *Streptococcus*, hữu dụng trong điều trị *Bacteroides fragilis* và một số vi khuẩn kỵ khí.



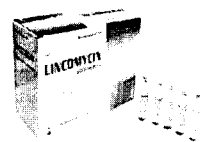
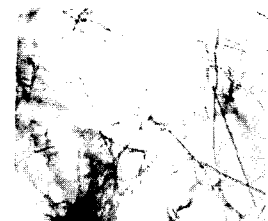


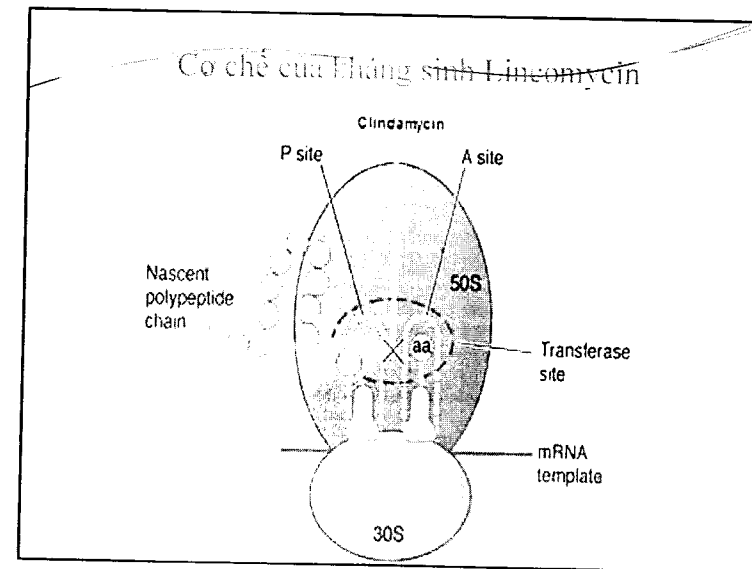
Lincomycin

Tên hóa học CTHH KLPT Điểm nóng chảy Điểm sôi	Methyl 6,8-dideoxy-6-(1-methyltrans-4-propyl-L-2-pyrrolidinecarboxamido)- α -thio-D-erythro-D-galactooctopyranoside $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ 406,54 765,65K 889,53K
---	---

Lincomycin

-Lincomycin lần đầu tiên được sản xuất từ *Streptomyces lincolnensis* và sau đó được sản xuất bằng các chủng *Streptomyces* khác và *Actinomyces*.



Phương pháp kiểm tra khảo sát
chế độ hoạt động của lincomycin

Năm 1964, nhà khoa học Surgalla đã thực nghiệm nuôi vi khuẩn *Staphylococcus aureus* trong 2 ống nghiệm:

Ống 1: nuôi cấy bình thường.

Ống 2: có bổ sung kháng sinh Lincomycin.

Sau đó xác định Protein bằng phương pháp Lowry nhận thấy:

TABLE 1

Effect of Lincomycin on C¹⁴-Lysine Incorporation by *S. aureus*

Addition	O.D. 660 mμ Increase	Counts per Minute			Ratios	
		Total*	Protein	Wall	$\frac{\text{Protein}}{\text{Total}}$	$\frac{\text{Wall}}{\text{Total}}$
None	.310 to .553	40,400	29,000	12,300	.72	.31
Lincomycin 50 μg/ml	.310 to .456	5,150	436	4,190	.08	.80

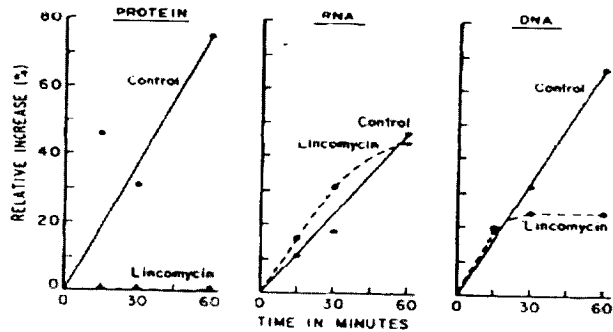


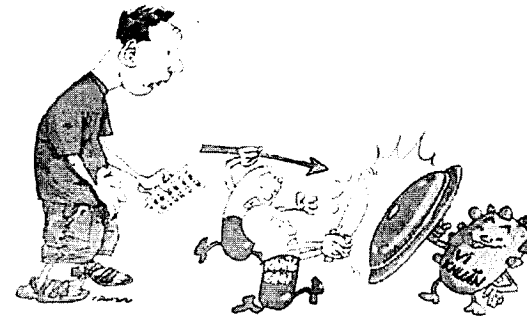
FIG. 1. THE EFFECT OF LINCOMYCIN ON NUCLEIC ACID AND PROTEIN SYNTHESIS IN *S. AUREUS*.

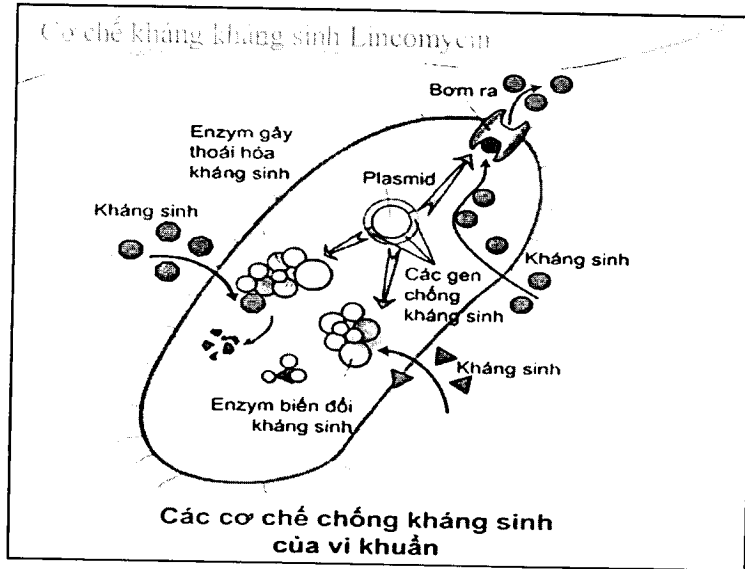
Những kết quả:

- Tác động trực tiếp của lincomycin trên *S. aureus* là hoàn toàn ức chế tổng hợp protein.
- Tổng hợp DNA không bị ảnh hưởng trong 15 phút đầu và tổng hợp RNA không bị ảnh hưởng trong 60 phút.

Cơ chế kháng kháng sinh Lincomycin

- 2 cơ chế:
 - Thay đổi vị trí gắn kết vào ribosome
 - Hệ thống bơm đẩy





Phổ kháng khuẩn của kháng sinh Lincomycin

- Có tác dụng tốt với vi khuẩn gram+ như: *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*,... Và vi khuẩn gram- như: *Pasteurella*, *Brucella*, *Salmonella*, *Ecoli*.
- Không có tác dụng với virus, nấm mốc và nấm men.
- Khoảng 50% số chủng *Staphylococcus* nhóm A kháng thuốc.
- Có sự kháng chéo giữa Lincosamides và Macrolide.

Được động học

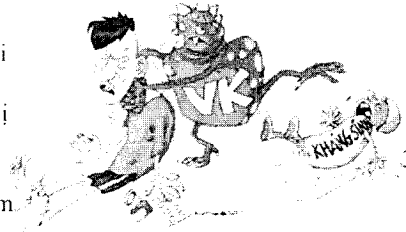
- **Sự hấp thu**
 - Lincomycin uống chỉ được hấp thu 25%-35%.
 - Nồng độ tối đa đạt được trong máu từ 1-4h và giữ không quá 6 tiếng nên phải uống 4lần/ngày.
 - Đưa vào cơ thể theo đường tiêm sẽ hấp thu hoàn toàn

Lincosamides đối với cơ thể

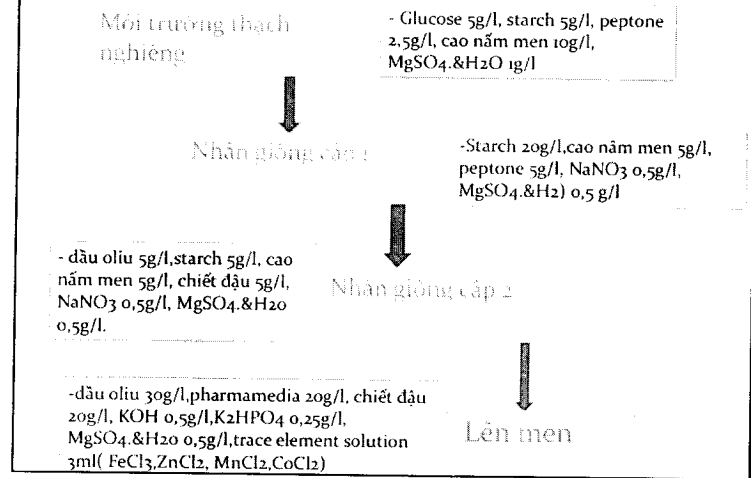
- **Sự phân bố trong cơ thể**
 - Phân bố khắp cơ thể đặc biệt ở xương và khớp → nên còn được chỉ định tốt cho các viêm xương tủy.
 - Gắn vào protein huyết tương khoảng 70% từ 1h30' đến 3h.
 - Thẩm mạnh vào các mô, đặc biệt phổi, gan, lách, xương, tuyến tiền liệt. Rất ít thấm qua màng não.
- **Chuyển hóa:** diễn ra ở gan
- **Sự đào thải:** thải trừ qua đường mật chủ yếu dưới dạng còn hoạt tính.

Độc tính:

- Thường chỉ gặp các rối loạn tiêu hóa nhẹ (buồn nôn, nôn, tiêu chảy) và dị ứng ngoài da.
- Đôi khi có thể gây viêm ruột kết mạc giả, đôi khi nặng, dẫn đến tử vong
- Dùng kéo dài có thể gây viêm đại tràng chảy máu có màng giả (do *C. difficile* tăng sinh với số lượng lớn tiết ra độc tố ruột).



Lên men sản xuất Kháng Sinh lincomycin

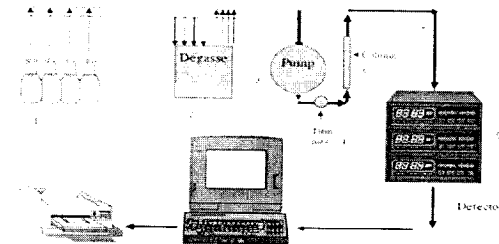


Fermentation

- Chủng giống: *Streptomyces lincolnensis* L1245
- Thanh trùng môi trường 121°C, 1.2 atm trong 20 phút, pH 6.9
- Hoạt hóa giống
- NGC1: 500ml-Erlen-meyer gồm 50ml dịch nuôi 28 °C trong 1 ngày, lắc 120rpm.
- NGC2: 2,5% 2,5% giống nuôi trong bình 500ml chứa 50ml môi trường nhân giống cấp 2, nuôi ở 28 °C ,lắc 120rpm.
- Lên Men: 10% giống, lên men trong thiết bị lên men dung tích 5l trong đó 2l môi trường, 28 °C trong 5 ngày.

Tinh chế

-Để tinh chế lincomycin người ta sử dụng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC.



- 3ml dịch lên men + 3ml ethanol lắc 5rpm trong 5 phút nhiệt độ phòng.
- → Điều kiện chạy HPLC
- + Pha động: 0,5 g/l pentanesulfonic acid
10ml acid acetic
0,2% tetrahydrofuran(PH 4)
- + Tốc độ dòng 5,0 ml/ phút.
- + Cột RP-Hypersil
- + UV 300nm
- + áp suất 500ps.
- + rửa giải: nước-2-butanol
- Để xác định nhựa tốt nhất để thu hồi lincomycin người ta khảo sát trên các loại nhựa: SIP1300, H103, H107, XAD-2 và XAD-4
- Sử dụng phương pháp hấp phụ trong điều kiện tĩnh: 1g nhựa được thêm vào bình 100ml dịch lincomycin hoặc dịch nổi để yên trong 18h

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng

Table 1. Comparison of Various Resins for Lincomycin Recovery From a Solution and Fermentation Broth Containing Lincomycin

Resins	Adsorption amount ($\times 10^3 \mu\text{g/ml resin}$)	
	With lincomycin solution	With fermentation broth
SIP1300	11,2	13,8
H103	15,5	10,2
H107	14,0	8,6
XAD-2	8,6	7,1
XAD-4	14,9	8,5

→ Từ bảng trên cho thấy nhựa SIP1300 là nhựa tốt nhất để tách lincomycin từ dịch lên men *Streptomyces lincolnensis* L1245

Gần đây, người ta nhận thấy rằng trong quá trình sinh tổng hợp lincomycin của *Streptomyces lincolnensis* thì chúng này sử dụng dầu oliu như nguồn C chủ yếu, và protein là nguồn N.

Table 2. Effect of Olive Oil Concentration on Lincomycin Recovery From a Lincomycin Solution

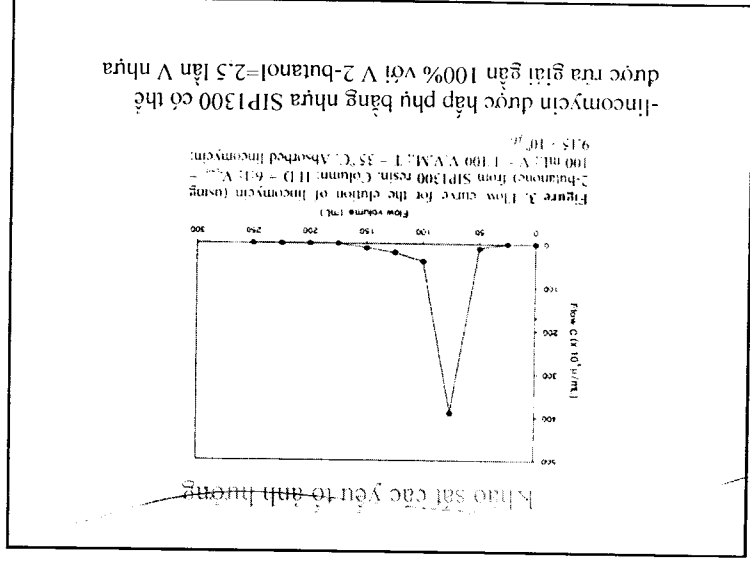
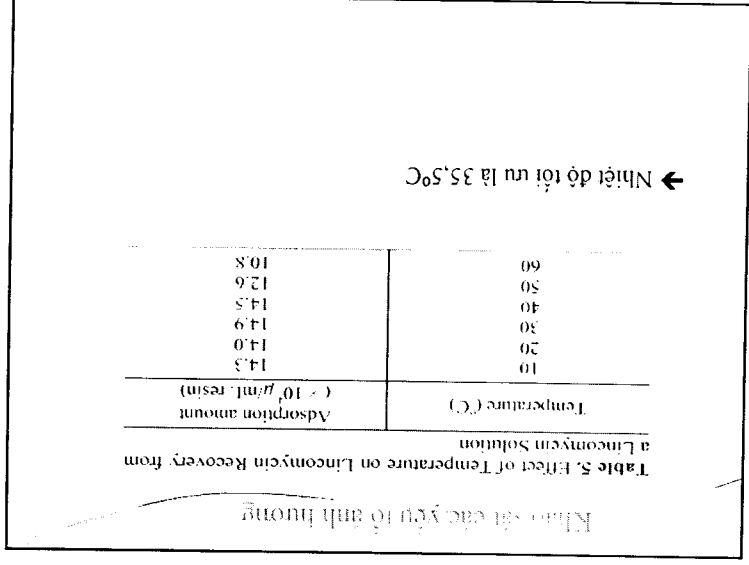
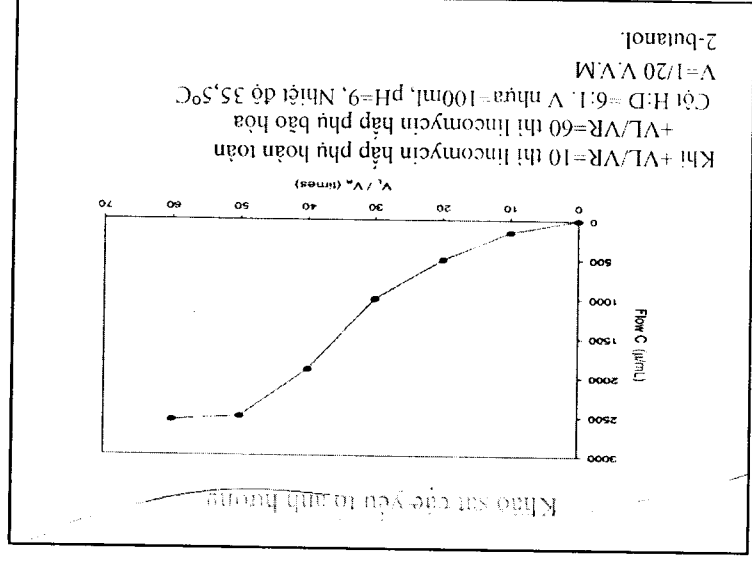
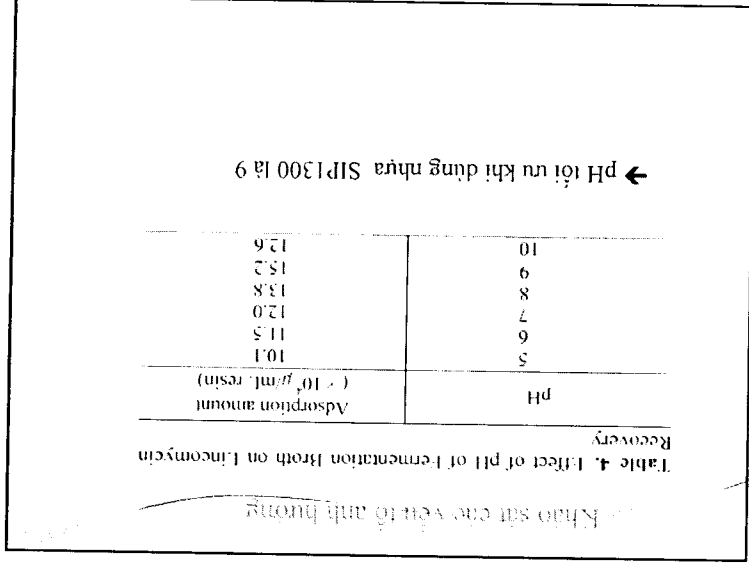
Olive oil concentration (g/L)	Adsorption amount ($\times 10^3 \mu\text{g/ml resin}$)
0.0	13.3
1.0	12.9
3.0	12.6
5.0	10.4
7.0	9.1
9.0	7.2

Nguồn C từ: palmitic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid and archedic acid được sinh ra từ dầu oliu gây ức chế.

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng

Table 3. Effect of Protein Concentration on Lincomycin Recovery From a Lincomycin Solution

Protein concentration (g/L)	Adsorption amount ($\times 10^3 \mu\text{g/ml resin}$)
0	13.6
3.0	13.0
5.0	12.4
7.0	11.0
9.0	9.2
11.0	8.5



Tinh Chế

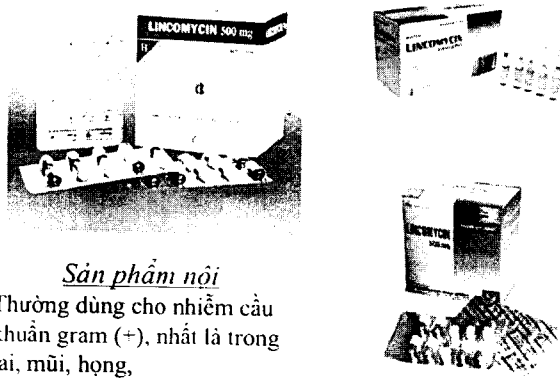
- Dịch lên men
- Viên trợ lọc + NaOH 5% → pH = 10.0
- Tinh sạch qua cột nhựa *Amberlite XAD-2*
- Tách rửa bằng nước + methanol (95:5)
- Phân tích bằng pp TLC trên gel silica (methyl ethyl ketone-acetone)

Tinh Chế

- Đông khô dịch lọc, bổ sung methylene chloride. Lọc chất không tan, dịch lọc còn lại bổ sung ether.
- Lọc lấy chất kết tủa và dịch lọc còn lại được trộn với methanol hydro clorua 1N
- Thu được tủa không màu *hydrochloride lincomycin*
- Kết tinh bằng ethanol

Trong điều kiện ổn định Lincomycin thu được chiếm 15%

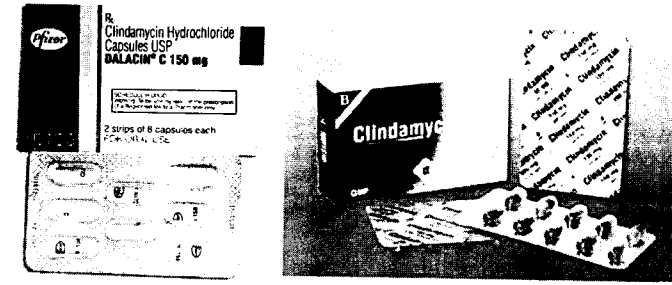
Một số sản phẩm



Sản phẩm nội

Thường dùng cho nhiễm cầu khuẩn gram (+), nhất là trong tai, mũi, họng,

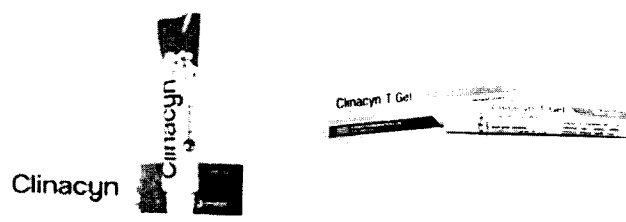
Một số sản phẩm



Sản phẩm ngoại

Thường dùng cho viêm phổi, nhiễm khuẩn đường hô hấp.


Một số sản phẩm



Clinacyn


Tuyệt vời

KHÔNG LẠM DỤNG KHÁNG SINH



Bạn có biết?

- Chỉ sử dụng kháng sinh khi được chỉ định của bác sĩ
- Không tự ý dùng thuốc kháng sinh để chữa bệnh
- Dùng đúng liều lượng và thời gian điều trị kháng sinh được chỉ định của bác sĩ
- Tuyệt đối không dùng lại thuốc kháng sinh cũ mà không tái khám



Bạn hãy ghi nhớ!

- Chỉ sử dụng kháng sinh khi được chỉ định của bác sĩ
- Luôn tuân thủ liều lượng và thời gian điều trị kháng sinh được chỉ định của bác sĩ
- Tuyệt đối không dùng lại thuốc kháng sinh cũ mà không tái khám

Tài liệu tham khảo

- 1: Du bok choi, Seong ryeol Ryu, On You Choi, Pemin Yin, and Kyu-Hyuk Kwun, Recovery and purification of Lincomycin from the Culture Broth of Streptomyces lincolnensis, Ind.Eng.Chem,Vol. 11,No.6(2005) 932-937
- 2: Joh R.Hofstetter,Kalamazoo,Mich, process for the purification of lincomycin,jan.26,1981
- 3: <https://en.wikipedia.org/wiki/Lincomycin>
- 4: J.Josten and Paris M.Allen,the mode of action of Lincomycin,research laboratorles,the Up John company,Kalamazoo,Michigan,1964

Cám ơn thầy và các bạn đã theo dõi lắng nghe!!!