

ПОЛИПЕПТИДТЕР СИНТЕЗІНІҢ
ХИМИЯЛЫҚ
ТЕХНОЛОГИЯЛАРЫН ЗЕРТТЕУ

A decorative graphic consisting of several parallel white lines of varying thicknesses, extending diagonally from the bottom left towards the top right of the page.

- ▶ Аминқышқылдарының химиялық синтезі және технологиясы негізінен биологиялық белсенді заттардың өндірістік синтездеп алу үрдісінде қолданылатын жай заттардан және органикалық текті заттардың алмасу өнімдерінен алу әдістерінне және химиясы мен құралдарын зерттеуге негізделген.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫСТЫҢ ӨЗЕКТІЛІГІ.

- ▶ Органикалық заттардың синтезінің жаңа технологияларын жасау үшін, алдымен биохимия, микробиология, органикалық заттардың синтезінің негіздерін, сонымен қатар аминқышқылдарының синтезінің өндірістік және инженерлік ғылым білімдерін меңгеру өзекті мәселе болып табылады. Аминқышқылдарын синтездеп алудың аймақтық шикізаттар қорының ассортиментіне байланысты әдісін таңдау және оның химиялық кинетикасын зерттеп оптимальды жағдайларын тәжірибелер мен есептеудің нәтижелері бойынша анықтау биологиялық белсенді заттар синтезі алдындағы терең зерттеуді қажет ететін мәселе.

ЗЕРТТЕУ ЖҰМЫСЫНЫҢ МАҚСАТЫ МЕН МІНДЕТТЕРІ.

- ▶ Бұл зерттеу жұмыста аминқышқылдарының синтезі мәселелері бойынша табиғи және синтетикалық түрлерінің негізгі типтерін зерттеу алға қойылған, аминқышқылдарының қазіргі заманғы биологиялық белсенділігінің критерилері мен препараттардың синтезінің технологиясының ерекшеліктері келтірілген. Аминқышқылдарының синтезінің технолгиялық сызбалары мен мысалдары, алынатын заттардың түзілу үрдістерінің химиялық механизімі зерттеу.
- ▶ Табиғи ақуыздардан гидролиз реакциясы арқылы амин қышқылдарын алу және оларды бір-бірінен бөліп алу әдістері зерттелген.
- ▶ Аминқышқылдары қазіргі таңда медицинада, ауыл шаруашылығында қолдануы үлкен маңызға ие, соған сәйкес оларға деген сұраныс артуда. Аминқышқылдарын синтездеп алу, олардың ассортиментін көбейту актуальды мәселе болып табылады.

ЗЕРТТЕУ НЫСАНЫ.

- ▶ Зерттеу нысаны. □ және □ аминқышқылдары, олардың физика-химиялық қасиеттері. Оның ішінде триптофан аминқышқылының синтезі мәселелері зерттеу.
- ▶ Триптофан синтезіндеп алуда өндіріс қалдықтары, техника қауіпсіздігі, техника-экономикалық нормалар, ақпараттық материалдар және негізгі технологиялық көрсеткіштері есептелген.
- ▶ Молекуласында бір мезгілде амин және карбоксил топтары болатын гетерофункционалды қосылыстарды амин қышқылдары деп атайды. Карбоксил тобына қарағанда амин тобының орналасуына байланысты □, □, □ және т.б. амин қышқылдары деп бөледі. Алуан түрлі пептидтер мен ақуыздарда □альфа- амин қышқылдарының қалдықтарынан тұрады.

АМИНҚЫШҚЫЛДАРЫН ӨНДІРІСТІК МАСШТАБТА ТӨМЕНДЕ КӨРСЕТІЛГЕН ӘДІСТЕРДІҢ БІРІМЕН АЛАДЫ:

Аминқышқылдарын өндірістік
масштабта алу

Химиялық синтез	Микробиологиялық синтез	Ақуыздар гидролизі
-----------------	----------------------------	-----------------------

Энзиматикалық	Ферментативті
---------------	---------------

МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ СИНТЕЗ

- ▶ Көп жағдайда L-триптофанның өнеркәсіптік өндірісінде *Candida utilis* ашытқылар штамптарын пайдаланады, дефектті аro-гендер бойынша және фенилаланинді және тирозинді ауксотрофты нәтижесіндегі жолмен синтезделеді. Синтез үшін бастапқы шикізат ретінде көп жағдайда салыстырмалы түрде арзан синтетикалық антранилді қышқыл қолданылады, оны қолдануды бір-қатар мақсатты жағдайлар үшін бірнеше себептері бар. Біріндіден ол үрдісті жинақы етеді және арзан болуын қамтамасыз етеді, ал екіншіден жүретін механизмдерді үнемі қадағалауға мүмкіндік береді (алынатын (целевой) өнім триптофан антранилатсинтазаға ингибирлеуші әсер береді). Аз мөлшерлі және қосымша регуляторлық эффектер тудырмайтын фенилаланин және тирозиннің мөлшері қатысында *Candida utilis* мутанттары антранилді қышқылының L-триптофанға өтуінің культуралды ортасына енуіне жағдай жасайды.
- ▶ Триптофанның микробиологиялық өндірісінде бастапқы шикізат ретінде сонымен қатар синтетикалық индол да қолданылады. Үрдіс триптофан-синтетазаның белсенділігіне және сериннің қолжетімділігіне тәуелді □23□.

ХИМИЯЛЫҚ – ФЕРМЕНТАТИВТІ СИНТЕЗ

- ▶ Микроорганизімдердің, яғни соның ішінде *Escherichia coli*, пиридоксаль тәуелді фермент триптофан-индол-лиаза (триптофаназа КФ 4.1.99.1, гена *trpA* гнінің өнімі) белгілі. Бұл ферменттің атқаратын қызметі тепе-теңдікті қадағалау үшін және реакцияның толық қанды жүруіне қажет жағдай жасайтындығымен белгілі
- ▶ триптофан + су \rightleftharpoons индол + пируват + аммоний.
- ▶ Осы жағдайлардың арқасында триптофанды индол, пировинограднды қышқыл және аммиакты ферментативті конденсациялу арқылы алуға болады.

Кесте 6- Аминқышқылдарын өндірістік синтез әдістері және негізгі өнімнің продуцирлеуші мөлшері

Аминқышқылы	Әлемдік өндірісі, тонн/жыл	Синтез әдісі
L-Глутамат	1000000	Ферментативті
DL-метионин	350000	Химиялық
L-Лизин	250000	Ферментативті
Глицин	22000	Химиялық
L-Фенилаланин	8000	Ферментативті
L-Аспарагиновая кислота	7000	Энзиматикалық
L-Треонин	4000	Ферментативті
L-Цистеин	1500	Ақуыздар гидролизі
DL-Аланин	1500	Химиялық
L-Глутамин	1300	Ферментативті

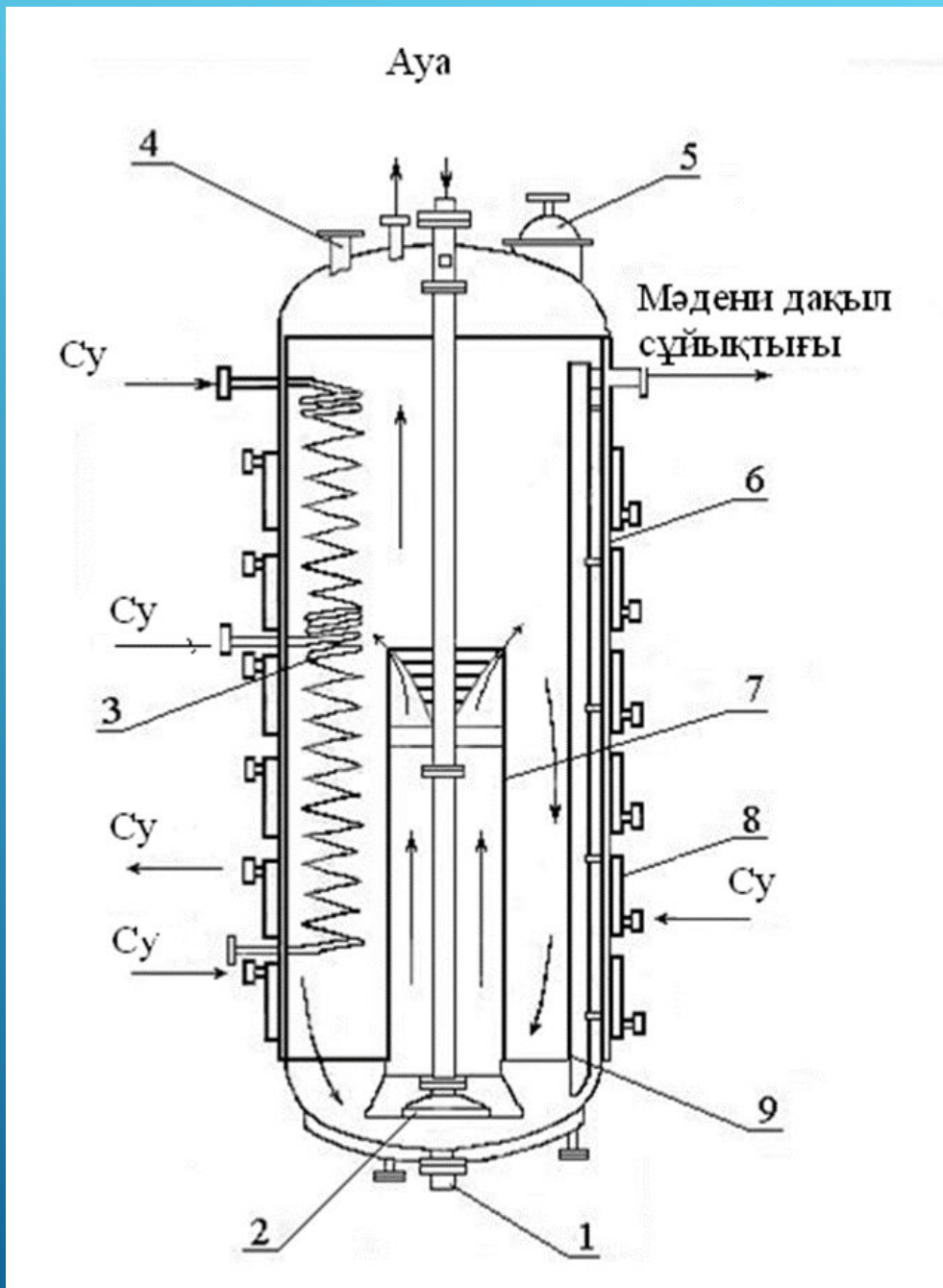
- ▶ Аминқышқылдарды алу әдісі (хим синтез, биосинтез, ферм синтез, өсімдік және жеп құрамдардан бөліп алу)
- ▶ Аминқышқылдарын химиялық синтез жолымен алуға болады, бірақ бұл жағдайда қиын ажыратылатын L- D- формадағы аминқышқылдарының рацемикалық қоспасы түзіледі. Аминқышқылдарын табиғи ақуыздардың гидлозі арқылы гидролизаттардан аминқышқылдарын бөлу жолымен алуға болады. Бірақ ақуыздардың артық қоры шектеулі, сонымен қатар қышқылды гидролиз кезінде кейбір аминқышқылдар, мысалы триптофан бұзылады. Қазіргі уақытта бүкіл дүние жүзінде көп мөлшерде глутамин қышқылын немесе оның натрий тұзын, L-лизин және метионин (50т жылына) алады. Осы мөлшердің көп мөлшерін микробиологиялық синтез береді.

Микробты жасушалардың ақуыздарына барлық 20 амин қышқылдары кіреді, олардың биосинтезі протропты түрлерінде көміртегі, азот және күкірт құрамды компоненттік ортада жүзеге асырылады. Көміртегінің бастапқы көзі ретінде көмірсулар және олардың жартылай тотығу өнімдері болып табылады.

Бастапқы заттар	Аминқышқылы
Пируват	Аланин, валин, лейцин
3-фосфолицерат	Серин, глицин, цистеин
Қымыздық сірке қышқылы	Аспартат, аспарагин, метионин, лизин, треонин, изолейцин
α -кетоглутар қышқылы	Глутамат, глутамин, аргинин, пролин
Фосфоенолпируват+эритрозо-4фосфат	Фенилаланин, тирозин, триптофан
5-фосфорибозил-1пирофосфат+АТФ	Гистидин

ТРИПТОФАН АЛУ ТЕХНОЛОГИЯСЫ

- ▶ L-триптофанды антранил қышқылынан алу технологиясында *Candida utilis* 295-t ашытқылар жүйесінің ферменттері қолданылады. Культивирлеу жағдайы мен құрам ортасын, себулік материалдарды қарапайым схемалар бойынша алынады. Бастапқы шикізатты өсіру 30°C температурада 24 сағат бойы қадағалау бойынша жүргізіледі және әр-бір пассажда жасалынады. Азоттың бастапқы шикі заты ретінде мочевинаны қолданады, оны концентрациясы 0,5–1% мөлшерінде қосады. Ортасы болу үшін%: K_2HPO_4 — 0,01; $MgSO_4$ — 0,05; $CaCl_2$ — 0,01; pH = 7,5÷8. тұздары қосылады.
- ▶ 24 сағаттық өнімнің өсуі барысынан соң ферментаторға 6 сағат сайын 5 проценттік антранил қышқылының спирттегі ерітіндісі және 50%-тік мочевина ерітіндісін қосып отырады. Сонымен қатар антранил қышқылының бірінші порциясын қосқаннан соң әр-бір 3-4 сағатта қосымша мөлшерде меласса қосады. Екінші кезеңінің жалпы ұзақтығы (антранил қышқылын қосқаннан соң) шамамен 120 сағатты құрайды. Культураның өсу периодындағы аэрация интенсивтілігі кем дегенде 7г O_2 /(л·сағ.) болуы керек, трансформация кезеңінде ол көрсеткіштер екі есеге төмендейді.



Сурет 2- Эрлифті бар ферментатор: 1- ағызу штуцері; 2 – аэратор; 3 – иірім; 4 – толтыру штуцері; 5 – люк; 6 – аппарат корабы; 7 – диффузор; 8 – сырт жабыны; 9 – қысым сырт жабыны

▶ Триптофанның заттардағы мөлшері

№ р/н	Өнім	100 г-дағы мг	№ р/н	Өнім	100 г-дағы мг
2	Бидай ұны (1- сорт)	120	17	Сыр еті II категории	230
4	Күріш	80	19	Қоян еті	330
8	Қара нан	70	26	Майшабақ	250
9	Нан	100	28	Бекіре	300
11	Сүт, айран	40	29	Жайын	210
13	Сүзбе майлы	210	32	Картоп	30
15	Сыр балқытылған	500	33	Сәбіз	10

- ▶ 298.15 К температурадағы триптофан α-аминқышқылдарының еру энтальпиясының $\Delta_{\text{sol}} H^0$ және сублимациясының $\Delta_{\text{subl}} H$ стандартты көрсеткіштері.

Қосылыс [NH ₃ ⁺ -CH(R)-COO ⁻]	R-	$\Delta_{\text{sol}} H^0$	$\Delta_{\text{subl}} H$
		кДж*моль ⁻¹	
Глицин	H-	14.25±0.06	136.5±0.5
L-Аланин (Ala)	CH ₃ -	7.61±0.08	138.1±0.8
D- Валин (D- Val)	(CH ₃) ₂ CH-	2.16±0.05	162.7±0.8
L- Лейцин (Leu)	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -	2.93±0.2	150.6±1.1
L-Фенилаланин (Phe)	(C ₆ H ₅) ₂ CH ₂ -	7.69±0.08	153.9±0.9
L- Серин (Ser)	CH ₂ (OH)-	11.01±0.09	148±4
L- Треонин (Thr)	CH ₃ CH(OH)-	10.30±0.06 [10]	159±5
2-Аминопентан қышқылы (норвалин-Nvl)	CH ₃ (CH ₂) ₂ -	0.30±0.08 [11]	120.8±0.5
	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	6,1±0.2 [11]	134.4±0.4
L.D -Триптофан			

ЕСЕПТЕУГЕ ҚАЖЕТТІ ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРОЦЕСІНІҢ НЕГІЗГІ ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІ КЕСТЕДЕ КЕЛТІРІЛГЕН.

ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРОЦЕСІНІҢ НЕГІЗГІ ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІ

№	Ферментатор Көлемі (геом) м ³	Ферментатор Көлемі (жұмысшы) м ³	Ферментатор жұмыс циклы, Сағ	Биомасса Концентрациясы г/л(X)	Культурленетін сұйықтағы өнім концентрациясы, г/л (C)	Культурленетін сұйық жылдамдығы м ³ /сағ, (Wcf)
1	10	8	24-30	3,5-4,0	1,4	0,15
2	16	11,2	20-40	10,1	11,5	0,16
3	20	16	30-36	9,6	22	0,2
4	32	26	36-42	8,5	32	0,25
5	50	20	46-48	15	44	0,30
6	63	50,4	44-48	20	49	0,40
7	100	70	48-52	16,6	57	0,5
8	160	128	36-48	20	65	0,1
9	200	160	36-72	50	5,0	0,35
10	800	320	7-8	35	2,0	0,6

ҚОРЫТЫНДЫ

- ▶ Зерттеу жұмыстарының қорытындысы мынадай нәтижелері. Есептеуге қажетті ферментация процесінің негізгі технологиялық көрсеткіштері культурленетін сұйық жылдамдығы 6 нұсқада, культурленетін сұйықтағы өнім концентрациясы үлгілік нұсқада жоғары екендігі анықталды.
- ▶ Қоректік сұйықтығы бар су құрамында органикалық және бейорганикалық заттар, ақуыздың коллоидты фракциясы, культурленген сұйықтың қалған бөлігі - 17% тан көп болады.
- ▶ Триптофанның термодинамикалық есептеулері 298.15 К температурадағы α -аминқышқылдарының еру энтальпиясының $\Delta_{sol} H_0$ 6,1 \pm 0,2 және сублимациясының $\Delta_{subl} H$ 134,4 \pm 0,4 кДж*моль⁻¹ көрсеткіштерін көрсетті. $\Delta_{hydr} H_0/V_02$ параметрі аминқышқылдарының сулы ерітіндіні тұрақтандыру әсерінің көрсеткіші ретінде қолданылуы мүмкін екені көрсетілген. Оның көрсеткіші неғұрлым төмен болса, зерттеліп отырған қосылыс соғұрлым құрылымданған екендігін көрсетті.