

青霉素

上海第三制药厂 编

上海科学技术出版社

内 容 提 要

本书着重介绍青霉素的发酵工艺、控制方法，普鲁卡因青霉素与青霉素G钾盐的提炼结晶方法。对于青霉素培养发酵后液下脚应用于农业与畜牧业，原料的回收，以及成品规格与检验方法等，也作了简要的介绍。

本书可供抗菌素生产及研究方面以及发酵工业、医药工业等技术人员作为参考。

青 霉 素

上海第三制药厂 编

上海科学技术出版社出版

(上海南京西路2004号)

上海市书刊出版业营业许可证出093号

新华书店上海发行所发行 各地新华书店经售

上海市印刷六厂 印刷

开本 787×1092 1/32 印张 2 4/32 插页 1 字数 48,000

1960年1月第1版 1960年1月第1次印刷

印数 1—3,000

统一书号：15119·1396

定 价：(九) 0.22 元

目 录

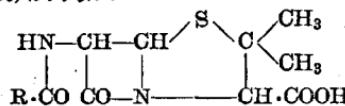
緒言	1
一、概述	2
1. 化學結構	2
2. 性狀	3
3. 藥理作用	4
4. 貯藏條件	9
二、青霉素的發酵工藝	9
1. 菌種選擇	9
2. 孢子制備	18
3. 種子培養	20
4. 有关青霉素發酵的一些常識	21
5. 發酵條件	24
6. 青霉素發酵	26
三、發酵工藝過程中的控制檢驗方法	27
1. 菌絲形態觀察	28
2. 无菌試驗	28
3. 單位產量檢定	30
4. 酸鹼度測定	33
5. 發酵液糖量測定	38
6. 氨氮測定	38
7. 發酵液菌絲體濃度測定	38
8. 發酵液含鐵量測定	39
四、普魯卡因青霉素的提煉與結晶工藝	39
1. 提煉目的和原理	39

2. 提炼方法	39
3. 結晶目的和原理	42
4. 結晶操作步驟	43
五、青霉素鉀盐的干燥結晶方法.....	44
六、提取青霉素后廢液濾餅下脚的處理.....	45
1. 有机溶媒的回收	45
2. 結晶母液的利用	45
3. 濾餅的利用	46
七、原材料的規格及其消耗定量.....	46
1. 发酵部分原材料規格	46
2. 提炼原材料規格	48
3. 結晶原材料規格	48
4. 原材料消耗定額	49
八、青霉素成品規格与檢驗方法.....	50
1. 結晶青霉素鈉盐及鉀盐的成品規格与檢驗方法	50
2. 普魯卡因青霉素的成品規格与檢驗方法	58
3. 油質普魯卡因青霉素的成品規格与檢驗方法	61
4. 青霉素制剂的成品規格与檢驗方法	62
附录：青霉素工厂主要生产設備表.....	65
1. 发酵設備	65
2. 提煉設備	65
3. 結晶設備	65

緒言

青霉素是抗菌素药类之一，俗称“配尼西林”。这是一种青霉菌分泌出来的化学物质。它能治疗肺炎、脑膜炎、腹膜炎、心內膜炎、骨髓炎、膿胸、創伤坏疽、水肿、癰和回归热、梅毒、淋病等等疾病。它的粗制品也广泛的用在畜牧兽医植物等方面和食品防腐方面。在生产过程中出来的菌絲廢渣可供农村作为良好的輔助飼料和肥料，对动植物也有防治病害和刺激生长的作用。

青霉素的化学結構式如下，它是二个氨基酸(二甲基胱氨酸及乙酰絲氨酸)所构成：



由于结构中旁鏈 R 基的不同，因此青霉素可分为以下几种。

旁鏈 R 基成分

青霉素名称

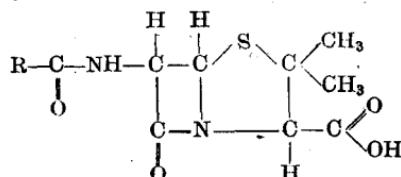
--CH ₂ ·CH—CH ₂ ·CH ₂ ·CH ₃	戊烯(2)青霉素或称青霉素 I，或称青霉素 F
--CH ₂ — 	苄基青霉素或称青霉素 II，或称青霉素 G
--CH ₂ — 	对羟苄基青霉素或称青霉素 III，或称青霉素 X
--CH ₂ ·CH ₂ ·CH ₂ ·CH ₂ ·CH ₂ ·CH ₃	庚青霉素或称青霉素 IV，或称青霉素 K
--CH ₂ ·S·CH ₂ ·CH—CH ₂	丙烯硫甲基青霉素或称青霉素 O
--CH ₂ O— 	苯氧甲基青霉素或称青霉素 V

上述青霉素中以青霉素 G 的应用最为普遍。青霉素 V 和青霉素 O 亦有使用。青霉素 V 对酸很稳定，适于口服。青霉素 O 一般使用在对苄基青霉素有过敏反应的病人。工业上

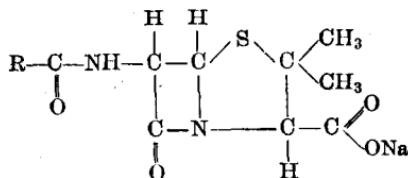
生产的青霉素主要为青霉素 G 和青霉素 V 及少量的青霉素 O。上海第三制药厂生产的是青霉素 G 和 V。这几年生产的原料药有青霉素 G 钾盐, 青霉素 G 普鲁卡因盐, 青霉素 G 酯, DBED 青霉素 G 和青霉素 V。制剂有 30 万单位、300 万单位的普鲁卡因青霉素 (G) 油剂针剂、40 万单位混悬剂针剂 (内含 30 万单位普鲁卡因青霉素, 10 万单位的青霉素钾盐) 和 20 万、40 万、60 万、100 万单位的青霉素 G 钾盐针剂。本书主要以普鲁卡因青霉素 G 原料药的生产知识为主, 其他类型的原料药和制剂只作些一般性的介绍。

一、概述

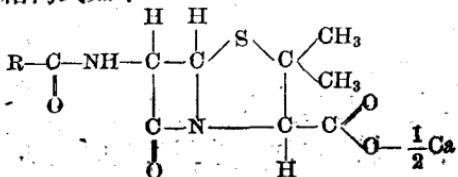
1. 化学结构 青霉素系在培养青霉菌(普通型青霉菌)时所发现。在青霉素生物合成中, 能产生 F、G、X、K、O、V 等各种青霉素。其基本化学结构式如下:



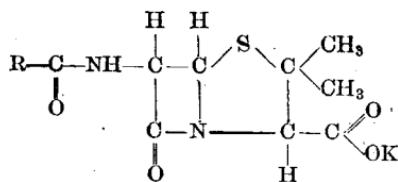
其钠盐结构式如下:



其钙盐结构式如下:



其鉀盐結構式如下：



F型青霉素的R基为 $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2\text{CH}_3$ (4²-戊烯基)①

G型青霉素的R基为 $-\text{CH}_2\cdot\text{C}_6\text{H}_5$ (苯甲基)②

X型青霉素的R基为 $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{OH}$ (对羟苯甲基)③

K型青霉素的R基为 $-\text{CH}_2\cdot(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ (正-庚基)④

O型青霉素的R基为 $-\text{CH}_2\cdot\text{S}\cdot\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ (丙烯硫甲基)⑤

V型青霉素的R基为 $-\text{CH}_2\text{O}\cdot\text{C}_6\text{H}_4$ (苯氧甲基)⑥

工业生产的青霉素主要是青霉素G和青霉素V及少量青霉素O的各种盐类制剂。

2. 性状 青霉素本身是一种有机酸，能与硷金属或硷土金属或有机胺类化合成盐类。青霉素酸极不稳定，易溶于氯仿、醚、醇、酯、酮等有机溶媒，不溶于脂肪族碳氢化合物。在水溶液中溶解度很小，且很快就失效。

青霉素的鉀盐、鈉盐、鈣盐未完全精制时，为淡黃色或淡棕色、无定形的粉末，細粒或凝块。精制后，即成白色无定形的粉末或細块。但鉀盐与鈉盐，可成为結晶、結晶性粉末、顆粒或鱗片，均有潮解性，遇酸即水解成青霉素酸。遇重金属或氧化物、酶、醛、多种酚及鞣酸类物质即分解或发生沉淀。遇光无显著变化。但在25°C以上的温度即緩緩变質，水溶液在pH值为6的时候比較上最为稳定。在24°C放置超过15天，效力即失去一半。本品在水、生理盐水或葡萄糖溶液中均极

① 4²-pentenyl ② benzyl ③ p-hydroxybenzyl ④ n-heptyl

⑤ allylmercaptomethyl ⑥ phenoxy methyl

易溶解。在醇中微溶，但迅速失效。在脂肪油或液体石蜡中均不溶。干燥结晶热至 100°C ，干热4日，效力损失不超过10%。

普魯卡因青霉素为白色或淡黃色的細微結晶，或結晶性粉末，几无臭，在空气与光中几无变化；遇酸或硷，即迅速失效。遇氧化剂亦破坏。本品的水溶液为左旋性，其饱和水溶液pH值为5~7.5。本品1克能在250毫升水、120毫升醇或60毫升氯仿中溶解。

3. 药理作用 青霉素有很广泛的抗菌譜。葡萄球菌、鏈珠菌、肺炎球菌、淋球菌、破伤风杆菌、气性坏疽菌、厌气膿毒菌、炭疽杆菌及放綫菌均对青霉素具有高度敏感性。对梅毒螺旋体，青霉素亦有抗微生物作用。青霉素的治疗作用机理为对敏感的病原微生物具有抑菌和部分的杀菌作用。青霉素作用的本质是：它能破坏焦性葡萄酸的轉变，又能和菌体細胞的氫硫基①或微生物生存和繁殖上所必要的物质氫硫基相结合，打乱了細菌的新陈代谢，从而抑制了細菌的生长。青霉素除了抗菌范围很广为其特点外，其另一优点是当有濃液和組織分解产物存在时，仍能保持充分的制菌效力。

青霉素具有这样多的治疗作用和安全范围，故应用很广，但当使用时，亦有出現副作用，表現于注射部位疼痛、寒战，有时伴有体温上升，臉部发紅，發生蕁麻疹，粘膜水肿，通常这些副作用不会带来严重后果，但亦有发生严重过敏反应者。因此使用时須經医师診治；并应在注射前作过敏反应試驗，然后根据試驗結果，决定使用与否，这一点对于使用注射剂时尤属必要。为着十分重視过敏性病人的生命和健康，医务工作者必須对每一个病員采取十分負責和慎重的态度，决不能麻痹大意而让病人遭到意外的不幸。

① sulfhydryl

应用青霉素的最适当方法是胃腸外給药法，通常作肌肉注射，有时亦作靜脉注射；此外并有口服制剂与含錠，以及外用药膏、外粉剂、溶液等，視各种病情需要而分別采用。

(一) 注射剂

(1) 青霉素水溶液注射剂：供靜脈、肌肉或肌鞘內注射用。将生产的无菌青霉素鉀盐或鈉盐分装于已經高温消毒并經冷却的玻璃瓶中；瓶口已經蓋上消毒的橡皮塞，此后軋上鋁盖，在鋁蓋外部封上一层蜡，容量分 20 万、50 万、100 万单位三种，使用时加入注射用蒸餾水 1 毫升，即可注射。每次用量为 5 万单位；每 6 小时注射 1 次，也有每天注射 1 次；每次用量为 20 万单位者。本品的优点为作用迅速并且在使用时方始加入注射用水，这里可以避免将青霉素以溶液状态放置而降低其疗效。

(2) 青霉素悬浮液注射剂：制备方法与水溶液注射剂相同。不过分装入瓶內的，系普魯卡因青霉素 30 万单位与青霉素 G 鉀盐 10 万单位，在橡皮塞与鋁蓋外，封一层蜡。全部操作均需无菌。在使用时加入注射用水后，振搖片刻，即可注射。每次用量为 40 万单位肌肉注射；本品的优点为抗菌作用持久，仅需每天注射一次。

(3). 青霉素油剂：制造方法系取麻油或花生油，緩緩加入計算量的氫氧化鈉溶液，以除去油中的游离酸，不断攪拌，待氫氧化鈉加完后，用烈火加热至油中的皂类均上浮后，过滤，除去皂类；在滤出的油中加入脫色炭，攪拌半小时后过滤，取滤出的油通入水蒸气，以驅除揮发性的臭味，然后在不断攪拌下直接加热以去除水分。經上述处理后的油，再經消毒后即可作为注射用油，通称为中性油。将該油減压加热（至 110°C）消毒后；然后加 2% 的单元硬脂酸鋁調成油膏。油膏調配方法是先将加温油于計算量的单元硬脂酸鋁中，俟单元硬脂酸

鋁浸泡1天后，倒入待配油膏的中性油中。在保溫情況下不斷攪拌，至成粘度較大半透明的油膏時，即乘熱過濾，以去除不溶解物質，即得單元硬脂酸鋁油膏。於是加入普魯卡因青霉素，攪勻後經過乳磨機乳磨均勻，即成青霉素油劑。然後用分裝機將它分裝入已消毒的小瓶中。每瓶裝入量10毫升，共含青霉素300萬單位。使用時每次僅需注射1毫升，即30萬單位肌肉注射。本品優點為作用時間持久，且保存時間較長；其缺點為如果注射不當時，病者稍有疼痛感。本品在5°C以下使用時需先以37°C水溫熱3分鐘，如此則流動性較大，注射較方便。本品也可用噃啶青霉素①代替普魯卡因青霉素；制備方法均與以上制成青霉素油劑一樣。

(4) 青霉素肺內注射劑：本品注入病肺可以治療支氣管擴張症，但目前使用不多。其制備方法是將青霉素45萬單位加入2~8毫升的碘化油中（含碘40%），每次用量為1毫升。

(5) 靜脈注射劑：通常溶解青霉素鈉鹽（或鉀鹽）3~6萬單位至500毫升生理鹽水中，使用時須特別小心。控制每分鐘滴入30~40滴。為了適應各種不同的病情需要靜脈注射劑，這對嬰兒與某些特殊病例的人來說是不適宜的，因此乃制成了以下各種不同的劑型。

(二) 口服制剂 本品供口服用，用量遵醫囑，通常每6小時服10萬單位。

(1) 膜囊劑：將10萬單位的青霉素鉀鹽裝於2號膜囊中，消毒後，即可裝瓶。每次用量為10萬單位。

(2) 片劑：將5萬或20萬單位的青霉素鉀鹽與淀粉及碳酸鈣等輔料（亦可酌加檸檬酸鈉）混勻後，軋片即得成品。

(3) 錠劑：本品供口含用。本品大部分應用於口腔與咽喉發炎，系將青霉素鉀鹽與蔗糖、乳糖及適量的賦形劑與矫味

① pyrimidine

剂混匀后轧片。每片重約1克，含青霉素約1000单位。

(三)青霉素眼膏 本品供眼科外涂用。取凡士林900克与羊毛脂100克，置蒸发鍋中，加热熔化后，乘热过滤。滤液在150°C灭菌1小时后作为基質。然后用青霉素鉀盐100万单位，置灭菌乳鉢中，用少量新鮮重蒸餾水溶解，加入上述部分基質，用力研匀，在攪拌的同时緩緩加入上述剩余的基質，使全量为1公斤，放冷即可。全部操作均需无菌。

(四)青霉素軟膏 本品供外科使用。取乳化蜡0.7克，固体石蜡5克，及液体石蜡4.1克，加热熔在一起，盛于适当容器中，冷至60°C左右备用。再将氯甲酚加温溶入47克蒸餾水中，冷却至60°C，再将檸檬酸鈉0.25克及青霉素鉀盐(或鈉盐)10万单位溶入，将两液趁温合并，塞紧瓶盖，剧烈振搖后，急速冷却即得。石蜡成分可依用途及季节加以适当調整，亦有每克軟膏含1万单位青霉素鉀盐者。

(五)青霉素撒布剂 本品系供伤口撒布使用。在調制时須严守无菌手續，其处方有用青霉素15万单位，磺胺噻唑30克。制备方法系将磺胺噻唑加热至150°C，經10小时，放冷后漸漸加入无菌的青霉素，研匀后，过篩密封即成；亦有用氨基磺胺代替磺胺噻唑者。其处方为青霉素15万单位，氨基磺胺3克，輕質氧化鎂27克。

(六)青霉素噴雾剂 本品为青霉素鉀盐水溶液，每毫升含2~10万单位，通常用以治疗喉头及呼吸系統感染，也可以在青霉素噴雾剂中加入极少量的腎上腺素或麻黃素溶液。此項制剂不宜久存，通常均須現制現用。

青霉素的应用目前已遍及各科，故其制剂亦品目繁多。除上述数种主要制剂外，尚有咀剂(专用于口腔感染)；牙錐剂(牙科用)；舐剂；滴眼水；栓剂；嗅入剂等等。

(七)复合制剂 由于其他抗生素的发展日新月异，近年

来复合制剂的发展进度甚速，青霉素的新品种，亦日漸增多，且有其独特的优点。茲略述青霉素新品种及复合制剂如下：

- (1) 鏈青西林(或称双效西林)注射剂：每瓶含普魯卡因青霉素 30 万单位，青霉素鉀盐 10 万单位及双氫鏈霉素 0.5 克(系加入双氫鏈霉素硫酸盐)。
- (2) 双效西林油膏：本品每克含青霉素鉶盐 1 万单位及双氫鏈霉素 10 毫克，以制成油膏作外用。
- (3) 嘧啶青霉素油膏：本品每克油膏含嘧啶青霉素 1 万单位，外用消炎止痛。
- (4) 嘧啶青霉素片剂：每片含嘧啶青霉素 10 万单位与 25 万单位二种。內服解热、鎮痛，消炎。
- (5) 青霉素“沙发美星”❶ 粉剂：本品每克含青霉素鉶盐 5000 单位，适用于局部治疗与表面創伤。
- (6) 青霉素 V 片剂：本品为新的青霉素制品，口服后不受胃酸的影响，故收效較其它口服青霉素佳。每片含青霉素 V 60 毫克(相当于 10 万单位青霉素 G)，每 4 小时服 1 次。
- (7) 青霉素 V 药液：本剂呈細粒状，加水即配成香甜可口的懸浮液，每剂 1.75 毫升，含 30 毫克青霉素 V。
- (8) 青霉素 V 磺胺复合剂片：每片含 60 毫克青霉素 V，0.3 克磺胺双嘧啶❷ 及 0.14 克磺胺嘧啶❸。
- (9) 青霉素酯❹：本剂为青霉素二乙基氨基乙酯碘化氫盐。每針 30 万单位，能有選擇性地濃縮到肺部組織，适于肺部感染治疗。
- (10) 長效青霉素❺ 即 DBED 青霉素盐。一次注射 30~100 万单位可以維持 7~30 天，适于用作預防注射和治疗梅

❶ Sulphamezathine ❷ Sulphadimidine ❸ Sulphamerazine ❹ diethylamino ethyl hydroiodide Penicillin ❺ dibenzylethylene diamine dipenicillin

毒。但口服无长效。

4. 贯藏条件 由于青霉素性质不太稳定，因此须贮藏于适宜的玻璃容器内，密闭或熔封，凉在 15°C 以下处，避湿保存。青霉素钾盐及水溶液制剂更需在干燥处低温保存。

二、青霉素的发酵工艺

1. 菌种选擇 青霉素是一种微生物青霉菌的代谢产物，也就是青霉菌生活过程中分泌出来的一种化学物质。青霉菌在自然界中分布极广，在空气、土壤、谷物、果皮、蔬菜、及食品和一些腐殖质上都可以发现。青霉菌在生物学上是属于真菌植物门不完全菌纲、菌丝菌目、稻热病菌科、青霉菌属。青霉菌属有三、四千种，不一定都分泌青霉素。产生青霉素的青霉菌用于工业生产的有 2 种；一是橄榄型①，二是普符型②。同属于轮生不对称青霉菌橄榄型族。青霉菌以“无性生殖”进行繁殖，先由孢子发芽，长成多细胞核的营养菌丝（或称沉没菌丝，基质菌丝，或生长菌丝），然后节间生出直立的气生菌丝（或称生殖菌丝），形成分生孢子柄，再以轮生方式着生大梗、小梗，渐形成分生孢子为止，此为一世代的生长程序。

橄榄型、普符型青霉菌二者都能产生青霉素。普符型青霉菌适合于表面培养法制取青霉素，橄榄型青霉菌则适于深层培养法制取。前者不适于大规模工业生产，经济价值不高，大规模生产都用后者，即采取深层培养法生产。

青霉菌属的形态具有一定的特征，通常以肉眼作初步观察，或借放大镜或低倍显微镜进行种间的描述及观察。青霉菌菌体可分为菌丝体及孢子体两大部分。菌丝体由众多的丝

① *Penicillium chrysogenum*, Thom. ② *Penicillium notatum*, Werming

状菌絲所組成。菌絲又可分作生殖菌絲及營養菌絲二種，都是具多細胞核的絲狀菌絲，菌絲中間形成隔膜。生殖菌絲能產生分生孢子，營養菌絲則攝取營養，起輸送養料的作用（見圖1）。

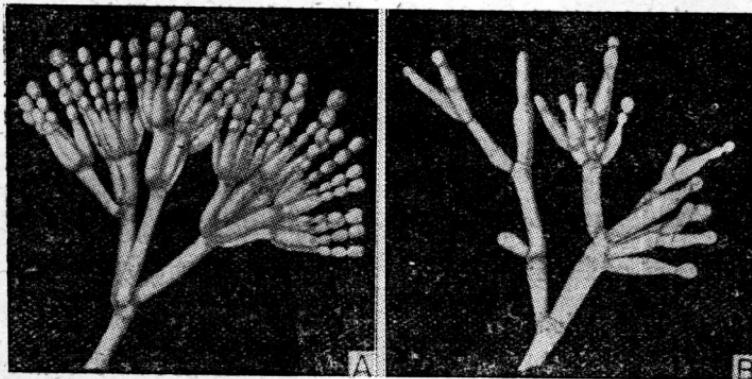


图1. 青霉菌的形态(青霉穗结构)

青霉穗系不对称双輪生

A图系 NRRL 1951 橄榄型青霉菌 B图系 NRRL 1951 B25 橄榄型青霉菌

产青霉素的音符型和橄榄型青霉菌，它們的形态及培养特征，有下列四点：

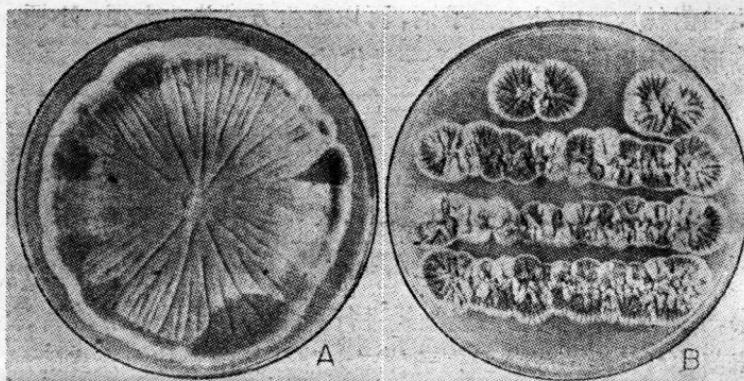


图2. 青霉菌音符型族的原始菌株形态

A. 单菌落(培养三星期) B. 划线培养的菌落形态(自沉没培养内划线)

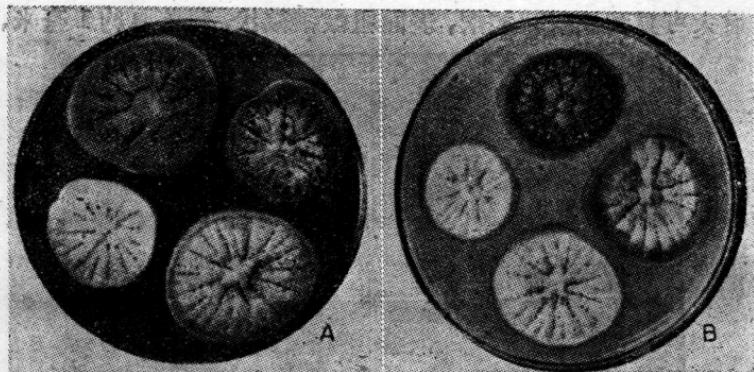


图3. 青霉菌菌落形态(自然变异的菌落形态)

橄榄型青霉菌 NRRL 1951 B25 在培养三星期后的不同变异菌落形态

(一) 菌落组织呈绒状，分生孢子柄丛生于营养菌丝之上。菌落表面显现放射状或轮状畦沟，菌落为黄绿色、绿色，或青绿色。

(二) 菌落表面凝集呈珠状的淡黄色分泌物，菌落背面具有黄色可溶性色素。培养时间延长可使色素变深而至棕色。

(三) 有轮生不对称青霉穗，壁光滑，分枝不规则。分枝顶端着生大梗、小梗。

(四) 分生孢子，呈球状或椭圆形；大小约 2.5~4.0 微米或 4.5 微米(直径)。

产生青霉素的二个菌种同属于青霉菌族，然而在它们的形态上，是有差异的。兹分述于下(不同的培养基质及培养环境都能引起菌落形态的变化，即使同一菌株，由于培养所用的基质相异，所造成的结果也不相同)：

橄榄型青霉菌：“生长于蔡氏①合成琼脂平板，在室温(25~27°C)培养 10~12 日后，菌落直径为 4.5~5.0 厘米。分生孢子发芽，形成点状菌落，随培养时间的延长，菌落直径

① Czapek

增大可見到放射狀皺褶，表面組織細紋狀，菌落厚約1毫米。

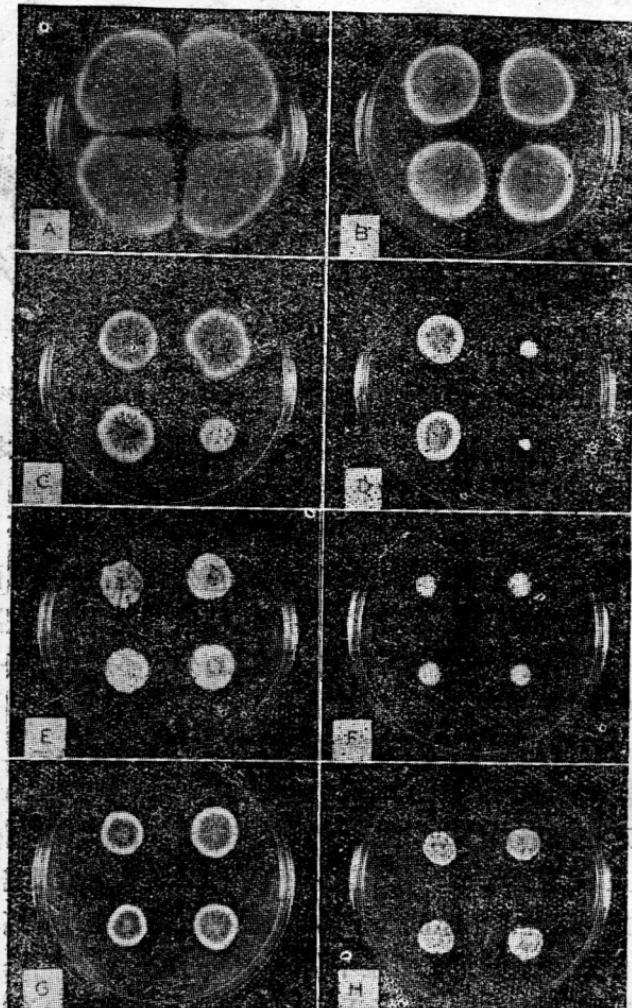


图4. 青霉菌橄欖型菌株各变种的菌落形态(平板培养7天)

A. NRRL 1951

B. X 1612

C. W 2 176

D. W 48-701

E. W 49-133

F. W 51-20

G. W 51-20A

H. W 52-844

最薄不低于 300~500 微米。边缘白色，宽约 1~2 毫米。大部分菌落，孢子生长丰茂。有些菌落在中央不长孢子而呈淡黄或乳胶色。着生孢子的部分呈黄绿色或蓝灰色，表面有凝集的淡黄色分泌液滴，背面有淡黄色可溶性色素。分生孢子柄丛生于营养菌丝上，长约 200 微米，直径约 3.0~3.5 微米。柄壁光滑无色。青霉穗不对称双轮生，分枝顶端再轮生着带有 2~5 个小梗的大梗。分枝长约 15~25 微米，直径 3.0~3.5 微米。大梗长 10~12 微米，直径 2~3 微米；小梗长约 8~10 微米，直径 2.0~2.5 微米。分生孢子椭圆形，很少的属则分生孢子近似球形，大小 3.0~4.0 微米，直径 2.8~3.5 微米。壁光滑。孢子群呈黄绿色。

当菌种培养于玉米浆琼脂平板，菌落生长较速，10~12 天后菌落的直径为 5.5~6.0 厘米，分生孢子柄结构同前，而其长度却为 300 微米。当菌落培养于麦芽汁琼脂平板时，菌落平坦，无放射状畦沟，细绒状，分生孢子柄结构如前。

香符型青霉菌：生长于蔡氏合成琼脂平板，在室温培养 10~12 天后，菌落直径为 3.5~4.0 厘米（部分菌落较小，不超过 2.5~3.0 厘米），基层组织较疏松，有较明显的环状生长区域，有放射状皱褶。边白色或淡黄色，宽约 1~2 毫米。有些菌落中央亦不生孢子而呈淡黄色。孢子着生区域通常为蓝色。表面分泌液珠较大（2~3 毫米直径）。菌落背面也产生黄色或金黄色色素，培养年龄过长则逐渐变为棕色。分生孢子柄亦丛生于基质菌丝上，长约 250~500 微米（宽 2.5~3.0 微米，或 3.0~3.5 微米）。壁光滑无色。青霉穗双轮生。分枝为 10~15 微米，直径 2.5~3.0 微米；着生 3~5 个大梗，长 9~16 微米，直径 2.5~3.0 微米（通常为 10~12 微米），再由大梗着生 4~6 个小梗，体积为 8~10 × 2.0~3.0 微米大小。分生孢子为球状或类似球状，大小 3.0~3.5 微米，