



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 118256587 A

(43) 申请公布日 2024. 06. 28

(21) 申请号 202410497818.2

(22) 申请日 2024.04.24

(71) 申请人 湖北共同笛体药物研究院有限公司

地址 430000 湖北省武汉市东湖新技术开
发区高新大道858号九龙生物产业基
地医药园研发区C6栋一、三、四、五层
(自贸区武汉片区)

(72) 发明人 房鸣 邹振东 易红磊 汪晗
系祖斌 李明磊 姚立成

(74) 专利代理机构 武汉红观专利代理事务所
(普通合伙) 42247

专利代理师 赵志汝

(51) Int. Cl.

C12P 33/10 (2006.01)

C12R 1/66 (2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄
体酮的方法

(57) 摘要

本发明提出了一种黄体酮高效发酵转化生
产11 α -羟基黄体酮的方法,包括以下步骤:以曲
霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78) 为生产
菌株,经过产孢,孢子悬液制备,种子培养,发酵
培养,底物转化获得高转化率的11 α -羟基黄
酮。本发明通过在发酵过程中及时添加葡萄糖,
维持发酵液中充足的营养物质;同时在发酵培养
基中添加硫酸铵、钼酸钠,可以促进11 α -羟基黄
酮的合成;两者相结合,可以有效提高转化速
率和底物转化,产生良好的经济效益。

1. 一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:包括以下步骤:
S1,产孢:以曲霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78) 为生产菌株,将菌株涂于PDA培养基上培养5~7d生成黄色孢子,然后将产孢培养基于4℃保藏;
S2,孢子悬液制备:将生理盐水加入产孢培养基中,清洗孢子,制备孢子悬液;
S3,种子培养,取孢子悬液按8v/v%~10v/v%的接种量接入种子培养基中,培养1~2d获得发酵种子;
S4,发酵培养,取发酵种子培养液按3v/v%~5v/v%的接种量接入发酵培养基中,培养12~24h,加入黄体酮继续发酵;发酵培养基组分为玉米浆干粉、葡萄糖、吐温-80、硫酸铵和钼酸钠;
S5,底物转化:发酵1d后,发酵液中的初始葡萄糖趋于耗尽时,流加葡萄糖溶液,当发酵液中的黄体酮转化率大于95%时结束发酵。
2. 如权利要求1所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:步骤S4中,黄体酮投入量为18~20g/L。
3. 如权利要求1所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:步骤S3中,种子培养基组分为葡萄糖20~30g/L、酵母浸粉10~20g/L、蛋白胨5~10g/L、磷酸氢二铵0.05g/L和玉米浆干粉8~10g/L,pH为5.5~6.0。
4. 如权利要求1所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:步骤S4中,发酵培养基组分为玉米浆干粉3~8g/L、葡萄糖30~50g/L、吐温-80 0.5~1.5g/L、泡敌0.2-0.5g/L、硫酸铵0.05~0.1g/L、钼酸钠0.05~0.1g/L,pH为5~6.5。
5. 如权利要求1所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:还包括以下步骤:步骤S5结束发酵后,过滤发酵液得到滤饼,萃取滤饼得到11 α -羟基黄体酮粗提物,然后将粗提物脱色,蒸馏得到精制产物。
6. 如权利要求5所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:采用甲醇萃取两次菌饼,收集两次萃取液真空旋蒸后得到粗提产物。
7. 如权利要求6所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:每次萃取时,甲醇:菌饼的质量比为8~10:1,萃取时间为1~2h,旋蒸温度为40~60℃。
8. 如权利要求5所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:粗提产物与二氯甲烷混匀,然后加入活性炭脱色,脱色结束后抽滤活性炭得到一次精制产物;加入甲苯蒸馏回收二氯甲烷,然后过滤得到精制产物。
9. 如权利要求8所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:粗提产物:二氯甲烷:活性炭的质量比为1:4~6:0.1,脱色温度为30~39℃。
10. 如权利要求8所述的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,其特征在于:一次精制产物:甲苯的质量比为1:4~6,蒸馏温度为70~95℃。

一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及微生物转化黄体酮技术领域,尤其涉及一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法。

背景技术

[0002] 黄体酮(progesterone)又称孕酮、黄体激素。绝大部分黄体酮由卵巢内的黄体分泌,其可以保护女性的子宫内膜,在女性怀孕期间,给胎儿的早期生长及发育提供支持和保障。在黄体酮的衍生化类型中,11 α -羟基黄体酮是一种具有类似于黄体酮性质的甾体激素。它在女性体内调节生殖周期、妊娠和乳腺发育等生理过程,并且参与调节女性的月经周期和促进子宫内膜的增生。此外,11 α -羟基黄体酮也在临床上用作激素药物。它可以用于治疗多种妇科疾病,如月经失调、不孕症等,并且用于辅助生殖技术中,帮助促进卵巢功能和增加受孕成功的机会。11 α -羟基黄体酮还是许多种甾体激素合成的中间体,11 α -羟基黄体酮凭借其分子结构优势可逐渐成为皮质激素市场的重要原材料,该应用方向也为黄体酮拓宽了多元化的下游市场需求来源。

[0003] 羟基化转化过程中,基本都是由P450酶催化的,其一般存在于细菌及真核细胞的内质网及线粒体。羟基化的过程是通过单加氧酶把氧气中的氧原子直接添加到甾体母核上。甾体母核的羟基化是重要的微生物转化甾体反应类型,通过11位羟基化在母核上加入羟基能显著增强药物作用。目前工业化羟基化主要使用的菌种为黑根霉与赭曲霉,其转化黄体酮的时间较长,且转化率低。为此需要一种转化时间短,转化率高的黄体酮转化生产11 α -羟基黄体酮的方法。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明提出了一种转化时间短,转化率高的黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法。

[0005] 本发明的技术方案是这样实现的:本发明提供了一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法,包括以下步骤:

[0006] S1,产孢:以曲霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78)为生产菌株,将该菌涂于PDA培养基上培养5~7d生成黄色孢子,然后将产孢培养基于4℃保藏;

[0007] S2,孢子悬液制备:将生理盐水加入产孢培养基中,清洗孢子,制备孢子悬液;

[0008] S3,种子培养,取孢子悬液按8v/v%~10v/v%的接种量接入种子培养基中,培养1~2d获得发酵种子;

[0009] S4,发酵培养,取发酵种子培养液按3v/v%~5v/v%的接种量接入发酵培养基中,培养12~24h,加入黄体酮继续发酵;

[0010] S5,底物转化:发酵1d后,发酵液中的初始葡萄糖趋于耗尽时,流加葡萄糖溶液,当发酵液中的黄体酮转化率大于95%时结束发酵。

[0011] 在以上技术方案的基础上,优选的,步骤S4中,黄体酮投入量为18~20g/L。

[0012] 在以上技术方案的基础上,优选的,步骤S3中,种子培养基组分为葡萄糖20~30g/L、酵母浸粉10~20g/L、蛋白胨5~10g/L、磷酸氢二铵0.05g/L和玉米浆干粉8~10g/L,pH为5.5~6.0。

[0013] 在以上技术方案的基础上,优选的,步骤S4中,发酵培养基组分为玉米浆干粉3~8g/L、葡萄糖30~50g/L、吐温-80 0.5~1.5g/L、泡敌0.2-0.5g/L、硫酸铵0.05~0.1g/L、钼酸钠0.05~0.1g/L,pH为5~6.5。

[0014] 在以上技术方案的基础上,优选的,还包括以下步骤:步骤S5结束发酵后,过滤发酵液得到滤饼,萃取滤饼得到11 α -羟基黄体酮粗提物,然后将粗提物脱色,蒸馏得到精制产物。

[0015] 在以上技术方案的基础上,优选的,采用甲醇萃取两次菌饼,收集两次萃取液真空旋蒸后得到粗提产物。

[0016] 在以上技术方案的基础上,优选的,每次萃取时,甲醇:菌饼的质量比为8~10:1,萃取时间为1~2h,旋蒸温度为40~60℃。

[0017] 在以上技术方案的基础上,优选的,粗提产物与二氯甲烷混匀,然后加入活性炭脱色,脱色结束后抽滤活性炭得到一次精制产物;加入甲苯蒸馏回收二氯甲烷,然后过滤得到精制产物。

[0018] 在以上技术方案的基础上,优选的,粗提产物:二氯甲烷:活性炭的质量比为1:4~6:0.1,脱色温度为30~39℃。

[0019] 在以上技术方案的基础上,优选的,一次精制产物:甲苯的质量比为1:4~6,蒸馏温度为70~95℃。

[0020] 本发明的一种黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法相对于现有技术具有以下有益效果:

[0021] (1) 本发明通过在发酵过程中及时添加葡萄糖,维持发酵液中充足的营养物质;同时在发酵培养基中添加了含有铵根离子、钼离子的硫酸铵、钼酸钠,可以作为辅助因子参与黄体酮的转化反应,促进11 α -羟基黄体酮的合成;两者相配合,可以有效增加发酵液中的菌丝密度及黄体酮的转化速率和利用率,提高转化速率和底物转化,产生良好的经济效益。

[0022] (2) 本发明增加了萃取、脱色和蒸馏方法,通过调节合适的有机溶剂及配比可以获得高纯度的11 α -羟基黄体酮,提高黄体酮的利用率。

具体实施方式

[0023] 下面将结合本发明实施方式,对本发明实施方式中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施方式仅仅是本发明一部分实施方式,而不是全部的实施方式。基于本发明中的实施方式,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式,都属于本发明保护的范围。

[0024] 实施例1

[0025] 本实施例的黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法包括以下步骤:

[0026] S1,产孢:以曲霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78) 为生产菌株,将该菌置于PDA培养基上,30℃恒温培养5d生成黄色孢子。将制得的产孢培养基放于4℃冰箱保藏。

[0027] S2,孢子悬液制备:将100mL生理盐水加入到产孢培养基中,清洗孢子,制得孢子悬

液。

[0028] S3,种子培养,用无菌铲铲取孢子悬液,按10v/v%的接种量接入种子摇瓶培养基(500mL/1000mL三角瓶),30℃,220rpm,培养24h即得发酵种子。种子培养基组分为葡萄糖20g/L、酵母浸粉10g/L、蛋白胨5g/L、磷酸氢二铵0.05g/L和玉米浆干粉8g/L,pH调至6,121℃灭菌30min。

[0029] S4,发酵转化,将种子培养液按5v/v%的接种量接种到发酵培养基中,发酵初始转速200rpm,通气量10L/h,培养温度29℃。培养16h,投入终浓度20g/L黄体酮,通气量升至20L/h。发酵培养基组分为玉米浆干粉6g/L、葡萄糖45g/L、吐温-80 1g/L、泡敌0.2g/L、硫酸铵0.08g/L、钼酸钠0.06g/L,121℃灭菌30min,灭菌前pH调至6.2,灭菌后pH调至6.0。

[0030] S5,营养补加:发酵24h后,发酵液中的初始葡萄糖趋于耗尽时,开始以100mL/h的流速流加150g/L的葡萄糖溶液,当高效液相色谱检测的发酵液中的黄体酮转化率高于95.00%时结束发酵,记录此时的转化率。

[0031] 高效液相色谱检测方法:流动相:乙腈:水溶液=48:52,色谱柱:Sunniest-C18(4.6×150mm,5Micron),ChromaNik Technologies.流速:1.0ml/min检测器:二极管阵列检测器(DAD);信号极性:正,柱温箱温度:35℃,进样体积:5.0μL,采集时间:50min。

[0032] 表1本实施例11α-羟基黄体酮转化速率

[0033]	转化时间	转化率
	12h	31.47%
	24h	62.36%
	36h	82.85%
	48h	96.15%

[0034] 实施例2

[0035] 本实施例的黄体酮高效发酵转化生产11α-羟基黄体酮的方法包括以下步骤:

[0036] S1,产孢:以曲霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78)为生产菌株,将该菌置于PDA培养基上,30℃恒温培养5d生成黄色孢子。将制得的产孢培养基放于4℃冰箱保藏。

[0037] S2,孢子悬液制备:将100mL生理盐水加入到产孢培养基中,清洗孢子,制得孢子悬液。

[0038] S3,种子培养,用无菌铲铲取孢子悬液,按10v/v%的接种量接入种子摇瓶培养基(500mL/1000mL三角瓶),30℃,220rpm,培养24h即得发酵种子。种子培养基组分为葡萄糖20g/L、酵母浸粉10g/L、蛋白胨5g/L、磷酸氢二铵0.05g/L和玉米浆干粉8g/L,pH调至6,121℃灭菌30min。

[0039] S4,发酵转化,将种子培养液按5v/v%的接种量接种到发酵培养基中,发酵初始转速200rpm,通气量10L/h,培养温度29℃。培养16h,投入终浓度20g/L黄体酮,通气量升至20L/h。发酵培养基组分为玉米浆干粉6g/L、葡萄糖45g/L、吐温-80 1g/L、泡敌0.2g/L、硫酸铵0.08g/L、钼酸钠0.06g/L,121℃灭菌30min,灭菌前pH调至6.2,灭菌后pH调至6.0。

[0040] S5,营养补加:发酵24h后,发酵液中的初始葡萄糖趋于耗尽时,开始以100mL/h的流速流加150g/L的葡萄糖溶液,当高效液相色谱检测的发酵液中的黄体酮转化率高于95.00%时结束发酵,记录此时的转化率。

[0041] S6,收集黄体酮发酵液,用抽滤装置将液体滤去得到菌饼,将菌饼与10倍量甲醇

(m/v)一起投入反应釜中萃取1h,之后用抽滤装置将菌饼与萃取液分离,重复一遍萃取过程。收集两次萃取液用真空旋蒸装置40℃回收甲醇,得到粗提产物。

[0042] S7,将粗提产物与5倍量二氯甲烷(m/v)混合,并加入0.1倍质量活性炭(m/m)脱色,37℃下处理2h后,抽滤除活性炭得到一次精制产物。再加入5倍量甲苯(m/v),70℃蒸馏回收二氯甲烷,然后过滤得到精制产物,检测精制产物11 α -羟基黄体酮的纯度。

[0043] 表2本实施例11 α -羟基黄体酮转化速率

[0044]	转化时间	转化率
	12h	31.52%
[0045]	24h	62.35%
	36h	82.73%
	48h	96.48%

[0046] 实施例3

[0047] 本实施例的黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法包括以下步骤:

[0048] S1,产孢:以曲霉(*Aspergillus nakazawae*, CBS 640.78)为生产菌株,将该菌置于PDA培养基上,30℃恒温培养7d生成黄色孢子。将制得的产孢培养基放于4℃冰箱保藏。

[0049] S2,孢子悬液制备:将100mL生理盐水加入到产孢培养基中,清洗孢子,制得孢子悬液。

[0050] S3,种子培养,用无菌铲铲取孢子悬液,按9v/v%的接种量接入种子摇瓶培养基(500mL/1000mL三角瓶),30℃,220rpm,培养36h即得发酵种子。种子培养基组分为葡萄糖25g/L、酵母浸粉15g/L、蛋白胨8g/L、磷酸氢二铵0.05g/L和玉米浆干粉9g/L,pH调至5.5,121℃灭菌30min。

[0051] S4,发酵转化,将种子培养液按3v/v%的接种量接种到发酵培养基中,发酵初始转速200rpm,通气量10L/h,培养温度29℃。培养12h,投入终浓度19g/L黄体酮,通气量升至20L/h。发酵培养基组分为玉米浆干粉3g/L、葡萄糖50g/L、吐温-80 0.5g/L、泡敌0.4g/L、硫酸铵0.1g/L、钼酸钠0.05g/L,121℃灭菌30min,灭菌前pH调至6.2,灭菌后pH调至6.0。

[0052] S5,营养补加:发酵24h后,发酵液中的初始葡萄糖趋于耗尽时,开始以100mL/h的流速流加150g/L的葡萄糖溶液,当高效液相色谱检测的发酵液中的黄体酮转化率高于95.00%时结束发酵,记录此时的转化率。

[0053] S6,收集黄体酮发酵液,用抽滤装置将液体滤去得到菌饼,将菌饼与8倍量甲醇(m/v)一起投入反应釜中萃取1h,之后用抽滤装置将菌饼与萃取液分离,重复一遍萃取过程。收集两次萃取液用真空旋蒸装置45℃回收甲醇,得到粗提产物。

[0054] S7,将粗提产物与4倍量二氯甲烷(m/v)混合,并加入0.1倍质量活性炭(m/m)脱色,30℃下处理2h后,抽滤除活性炭得到一次精制产物。再加入4倍量甲苯(m/v),75℃蒸馏回收二氯甲烷,然后过滤得到精制产物,检测精制产物11 α -羟基黄体酮的纯度。

[0055] 表3本实施例11 α -羟基黄体酮转化速率

[0056]	转化时间	转化率
	12h	33.26%
	24h	63.15%

36h	81.37%
48h	96.74%

[0057] 实施例4

[0058] 本实施例的黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法包括以下步骤:

[0059] S1,产孢:以曲霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78) 为生产菌株,将该菌置于PDA培养基上,30℃恒温培养6d生成黄色孢子。将制得的产孢培养基放于4℃冰箱保藏。

[0060] S2,孢子悬液制备:将100mL生理盐水加入到产孢培养基中,清洗孢子,制得孢子悬液。

[0061] S3,种子培养,用无菌铲铲取孢子悬液,按8v/v%的接种量接入种子摇瓶培养基(500mL/1000mL三角瓶),30℃,220rpm,培养24h即得发酵种子。种子培养基组分为葡萄糖30g/L、酵母浸粉20g/L、蛋白胨10g/L、磷酸氢二铵0.05g/L和玉米浆干粉10g/L,pH调至5.5,121℃灭菌30min。

[0062] S4,发酵转化,将种子培养液按5v/v%的接种量接种到发酵培养基中,发酵初始转速200rpm,通气量10L/h,培养温度29℃。培养24h,投入终浓度19g/L黄体酮,通气量升至20L/h。发酵培养基组分为玉米浆干粉8g/L、葡萄糖30g/L、吐温-80 1.5g/L、泡敌0.5g/L、硫酸铵0.05g/L、钼酸钠0.1g/L,121℃灭菌30min,灭菌前pH调至6.2,灭菌后pH调至5.8。

[0063] S5,营养补加:发酵24h后,发酵液中的初始葡萄糖趋于耗尽时,开始以100mL/h的流速流加150g/L的葡萄糖溶液,当高效液相色谱检测的发酵液中的黄体酮转化率高于95.00%时结束发酵,记录此时的转化率。

[0064] S6,收集黄体酮发酵液,用抽滤装置将液体滤去得到菌饼,将菌饼与10倍量甲醇(m/v)一起投入反应釜中萃取2h,之后用抽滤装置将菌饼与萃取液分离,重复一遍萃取过程。收集两次萃取液用真空旋蒸装置60℃回收甲醇,得到粗提产物。

[0065] S7,将粗提产物与6倍量二氯甲烷(m/v)混合,并加入0.1倍质量活性炭(m/m)脱色,39℃下处理2h后,抽滤除活性炭得到一次精制产物。再加入6倍量甲苯(m/v),95℃蒸馏回收二氯甲烷,然后过滤得到精制产物,检测精制产物11 α -羟基黄体酮的纯度。

[0066] 表4本实施例11 α -羟基黄体酮转化速率

转化时间	转化率
12h	35.47%
24h	61.84%
36h	83.63%
48h	97.05%

[0068] 实施例5

[0069] 本实施例的黄体酮高效发酵转化生产11 α -羟基黄体酮的方法包括以下步骤:

[0070] S1,产孢:以曲霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78) 为生产菌株,将该菌置于PDA培养基上,30℃恒温培养5d生成黄色孢子。将制得的产孢培养基放于4℃冰箱保藏。

[0071] S2,孢子悬液制备:将100mL生理盐水加入到产孢培养基中,清洗孢子,制得孢子悬液。

[0072] S3,种子培养,用无菌铲铲取孢子悬液,按10v/v%的接种量接入种子摇瓶培养基(500mL/1000mL三角瓶),30℃,220rpm,培养24h即得发酵种子。种子培养基组分为葡萄糖

28g/L、酵母浸粉18g/L、蛋白胨7g/L、磷酸氢二铵0.05g/L和玉米浆干粉9.5g/L,pH调至5.8,121℃灭菌30min。

[0073] S4,发酵转化,将种子培养液按4v/v%的接种量接种到发酵培养基中,发酵初始转速200rpm,通气量10L/h,培养温度29℃。培养20h,投入终浓度19g/L黄体酮,通气量升至20L/h。发酵培养基组分为玉米浆干粉7g/L、葡萄糖35g/L、吐温-80 1.2g/L、泡敌0.4g/L、硫酸铵0.06g/L、钼酸钠0.08g/L,121℃灭菌30min,灭菌前pH调至6.2,灭菌后pH调至6.0。

[0074] S5,营养补加:发酵24h后,发酵液中的初始葡萄糖趋于耗尽时,开始以100mL/h的流速流加150g/L的葡萄糖溶液,当高效液相色谱检测的发酵液中的黄体酮转化率高于95.00%时结束发酵,记录此时的转化率。

[0075] S6,收集黄体酮发酵液,用抽滤装置将液体滤去得到菌饼,将菌饼与9倍量甲醇(m/v)一起投入反应釜中萃取1.5h,之后用抽滤装置将菌饼与萃取液分离,重复一遍萃取过程。收集两次萃取液用真空旋蒸装置55℃回收甲醇,得到粗提产物。

[0076] S7,将粗提产物与4.5倍量二氯甲烷(m/v)混合,并加入0.1倍质量活性炭(m/m)脱色,35℃下处理2h后,抽滤除活性炭得到一次精制产物。再加入5.5倍量甲苯(m/v),85℃蒸馏回收二氯甲烷,然后过滤得到精制产物,检测精制产物11 α -羟基黄体酮的纯度。

[0077] 表5本实施例黄体酮转化11 α -羟基黄体酮的速率

[0078]	转化时间	转化率
	12h	34.95%
	24h	64.28%
	36h	83.79%
	48h	96.82%

[0079] 表1~5所述,本发明转化48h时,转化率可达到96.15%~97.05%以上,相比于对比文件转化56-60h,转化率96%~98%,本发明具有转化时间短,转化效率高的优点。

[0080] 对比例1

[0081] 对比例1与实施例1相比,采用黑根霉替代本申请的曲霉*Aspergillus nakazawae*, (CBS 640.78)。

[0082] 对比例2

[0083] 对比例2与实施例1相比,采用赭曲霉ATCC18500替代本申请的曲霉*Aspergillus nakazawae*, (CBS 640.78)。

[0084] 对比例3

[0085] 对比例3与实施例1相比,发酵培养基中缺少硫酸铵,其余内容相同。

[0086] 对比例4

[0087] 对比例4与实施例1相比,发酵培养基中缺少钼酸钠,其余内容相同。

[0088] 对比例5

[0089] 用乙酸乙酯萃取黄体酮发酵液,体积比为0.15的乙酸乙酯分两次萃取黄体酮发酵液,萃取结束后旋蒸掉乙酸乙酯得到产物11 α -羟基黄体酮,检测其纯度。

[0090] 对比例6

[0091] 对比例6与实施例2的区别是缺少步骤S7,其余内容相同。

[0092] 表6实施例和对比例48h转化率比较

[0093]		48h转化率
	实施例1	96.15%
	对比例1	89.87%
	对比例2	90.49%
	对比例3	90.31%
	对比例4	91.28%

[0094] 表6所示,采用现有的黑根霉与赭曲霉转化黄体酮生产11 α -羟基黄体酮时,转化率低,转化时间长;采用本申请的曲霉*Aspergillus nakazawae* (CBS 640.78),则起到了缩短转化时间,提高转化率的技术效果。此外,发酵培养基缺少硫酸铵和钼酸钠时,黄体酮转化11 α -羟基黄体酮的转化率显著下降,由此证明了硫酸铵和钼酸钠具有提高转化率,缩短转化时间的技术效果。

[0095] 表7实施例和对比例转化得到的11 α -羟基黄体酮的纯度

[0096]		纯度
	实施例 1	89.15%
	实施例 2	99.13%
	实施例 3	99.72%
	实施例 4	99.68%
	实施例 5	99.58%
[0097]	对比例 5	90.23%
	对比例 6	91.14%

[0098] 表7所示,对比例经过萃取、精制后11 α -羟基黄体酮的纯度由89%提升至99%,纯度得到显著的增加。此外,与乙酸乙酯相比,用甲醇萃取11 α -羟基黄体酮的效果更好,是因为甲醇极性比乙酸乙酯更高,因此在提取亲极性化合物时更有效。11 α -羟基黄体酮是一种极性较高的化合物,因此在甲醇中更容易溶解和提取。此外,由于反应体系中可能存在水溶性的杂质或其他组分,选择甲醇作为溶剂可以更好地去除这些杂质。另外,甲醇相对于乙酸乙酯来说更为廉价和易得,能够降低提取成本。甲醇对环境的影响相对较小,符合绿色化学的发展趋势。综上所述,选择甲醇作为提取11 α -羟基黄体酮的溶剂,能够提高提取效率、降低成本,并符合环保要求,因此效果较乙酸乙酯更好。

[0099] 以上所述仅为本发明的较佳实施方式而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。