



(21) 申请号 202211273344.0

(22) 申请日 2022.10.18

(71) 申请人 湖北共同药业股份有限公司

地址 441000 湖北省襄阳市宜城市小河高  
坑一组

(72) 发明人 系祖斌 艾文 陶琳 马雷 杨兵

(74) 专利代理机构 北京睿智保诚专利代理事务  
所(普通合伙) 11732

专利代理师 董大媛

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C12P 33/00 (2006.01)

C12R 1/34 (2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种耻垢分枝杆菌菌液及其制备方法和在  
制备甾体类药物中间体中的应用

(57) 摘要

本发明涉及甾体类药物中间体制备技术领域。本发明提供了一种耻垢分枝杆菌菌液及其制备方法和在制备甾体类药物中间体中的应用,所述耻垢分枝杆菌菌液的制备方法包括如下步骤:

(1) 将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中培育,得到预培养的耻垢分枝杆菌;(2) 将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,得到耻垢分枝杆菌菌液。本发明制备的耻垢分枝杆菌菌液能够用于甾体类药物中间体的生产,高效催化甾体类药物中间体原料的转化,有效降低生产过程中的污染。

1. 一种耻垢分枝杆菌菌液的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:
  - (1) 将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中培育,得到预培养的耻垢分枝杆菌;
  - (2) 将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,得到耻垢分枝杆菌菌液。
2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)中所述预培养基的配方为:葡萄糖20~30g/L、蛋白胨15~20g/L、糖蜜5~15g/L、蔗糖10~20g/L、琼脂20~30g/L,步骤(1)中所述预培养基的pH值为5.3~5.5。
3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)中所述培育的温度为30~32℃,步骤(1)中所述培育的时间为5~7d。
4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤(2)中所述液体培养基的配方为:葡萄糖10~15g/L、蛋白胨30~35g/L、麦芽糖20~30g/L、牛肉膏5~7g/L、麦芽膏粉40~60g/L,步骤(2)中所述液体培养基的pH值为5.5~5.8。
5. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于,步骤(2)中所述培育的温度为30~34℃,步骤(2)中所述培育的时间为18~30h。
6. 根据权利要求1~5任意一项所述的制备方法,其特征在于,步骤(2)中所述培育时采用摇床培养,所述摇床培养过程中的转速为120~140r/min。
7. 一种权利要求1~6任意一项所述制备方法制备的耻垢分枝杆菌菌液。
8. 权利要求7所述耻垢分枝杆菌菌液在制备甾体类药物中间体中的应用。
9. 根据权利要求8所述的应用,其特征在于,所述甾体类药物中间体为11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -双羟黄体酮、11 $\alpha$ -羟基坎利酮、11 $\alpha$ -羟基-4-熊烯二酮或11 $\alpha$ -羟基黄体酮。

## 一种耻垢分枝杆菌菌液及其制备方法和在制备甾体类药物中间体中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及甾体类药物中间体制备技术领域,尤其涉及一种耻垢分枝杆菌菌液及其制备方法和在制备甾体类药物中间体中的应用。

### 背景技术

[0002] 甾体就是类固醇类物质,通常指这一类的激素:肾上腺皮质激素、雄激素、雌激素,具有一定的抗炎作用。与甾体类药物对应的一般说的是肾上腺皮质激素,各种名字以“松”结尾的药物,具有一定的抗炎作用。非甾体类药物主要是双氯芬酸类还有布洛芬类还有COX2抑制剂。

[0003] 甾体类药物使用广泛,但是其生产过程中存在诸多问题,如产出率低、生产过程中污染严重,这些都制约着甾体类药物的的发展。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种耻垢分枝杆菌菌液及其制备方法和在制备甾体类药物中间体中的应用,能够高效催化甾体类药物中间体原料的转化,有效降低生产过程中的污染。

[0005] 为了实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

[0006] 本发明提供了一种耻垢分枝杆菌菌液的制备方法,包括如下步骤:

[0007] (1) 将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中培育,得到预培养的耻垢分枝杆菌;

[0008] (2) 将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,得到耻垢分枝杆菌菌液。

[0009] 作为优选,步骤(1)中所述预培养基的配方为:葡萄糖20~30g/L、蛋白胨15~20g/L、糖蜜5~15g/L、蔗糖10~20g/L、琼脂20~30g/L,步骤(1)中所述预培养基的pH值为5.3~5.5。

[0010] 作为优选,步骤(1)中所述培育的温度为30~32℃,步骤(1)中所述培育的时间为5~7d。

[0011] 作为优选,步骤(2)中所述液体培养基的配方为:葡萄糖10~15g/L、蛋白胨30~35g/L、麦芽糖20~30g/L、牛肉膏5~7g/L、麦芽膏粉40~60g/L,步骤(2)中所述液体培养基的pH值为5.5~5.8。

[0012] 作为优选,步骤(2)中所述培育的温度为30~34℃,步骤(2)中所述培育的时间为18~30h。

[0013] 作为优选,步骤(2)中所述培育时采用摇床培养,所述摇床培养过程中的转速为120~140r/min。

[0014] 本发明还提供了一种耻垢分枝杆菌菌液。

[0015] 本发明还提供了所述耻垢分枝杆菌菌液在制备甾体类药物中间体中的应用。

[0016] 作为优选,所述甾体类药物中间体为11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -双羟黄体酮、11 $\alpha$ -羟基坎利酮、11 $\alpha$ -

羟基-4-熊烯二酮或11 $\alpha$ -羟基黄体酮。

[0017] 本发明提供了一种耻垢分枝杆菌菌液及其制备方法和在制备甾体类药物中间体中的应用,所述耻垢分枝杆菌菌液的制备方法包括如下步骤:(1)将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中培育,得到预培养的耻垢分枝杆菌;(2)将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,得到耻垢分枝杆菌菌液。本发明制备的耻垢分枝杆菌菌液能够用于甾体类药物中间体的生产,高效催化甾体类药物中间体原料的转化,有效降低生产过程中的污染。

### 具体实施方式

[0018] 本发明提供了一种耻垢分枝杆菌菌液的制备方法,包括如下步骤:

[0019] (1)将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中培育,得到预培养的耻垢分枝杆菌;

[0020] (2)将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,得到耻垢分枝杆菌菌液。

[0021] 在本发明中,步骤(1)中所述预培养基的配方优选为:葡萄糖20~30g/L、蛋白胨15~20g/L、糖蜜5~15g/L、蔗糖10~20g/L、琼脂20~30g/L,进一步优选为葡萄糖25g/L、蛋白胨17~18g/L、糖蜜10g/L、蔗糖15g/L、琼脂25g/L。

[0022] 在本发明中,步骤(1)中所述预培养基的pH值优选为5.3~5.5,进一步优选为5.4。

[0023] 在本发明中,步骤(1)中所述培育的温度优选为30~32℃,进一步优选为31℃。

[0024] 在本发明中,步骤(1)中所述培育的时间优选为5~7d,进一步优选为6d。

[0025] 在本发明中,步骤(2)中所述液体培养基的配方优选为:葡萄糖10~15g/L、蛋白胨30~35g/L、麦芽糖20~30g/L、牛肉膏5~7g/L、麦芽膏粉40~60g/L,进一步优选为葡萄糖12~13g/L、蛋白胨32~33g/L、麦芽糖25g/L、牛肉膏6g/L、麦芽膏粉50g/L。

[0026] 在本发明中,步骤(2)中所述液体培养基的pH值优选为5.5~5.8,进一步优选为5.9。

[0027] 在本发明中,步骤(2)中所述培育的温度优选为30~34℃,进一步优选为32℃。

[0028] 在本发明中,步骤(2)中所述培育的时间优选为18~30h,进一步优选为24h。

[0029] 在本发明中,步骤(2)中所述培育时优选采用摇床培养。

[0030] 在本发明中,所述摇床培养过程中的转速优选为120~140r/min,进一步优选为130r/min。

[0031] 本发明还提供了一种耻垢分枝杆菌菌液。

[0032] 本发明还提供了所述耻垢分枝杆菌菌液在制备甾体类药物中间体中的应用。

[0033] 在本发明中,所述甾体类药物中间体优选为11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -双羟黄体酮、11 $\alpha$ -羟基坎利酮、11 $\alpha$ -羟基-4-熊烯二酮或11 $\alpha$ -羟基黄体酮,进一步优选为11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -双羟黄体酮或11 $\alpha$ -羟基坎利酮。

[0034] 下面结合实施例对本发明提供的技术方案进行详细的说明,但是不能把它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0035] 实施例1

[0036] (1)按照葡萄糖20g/L、蛋白胨20g/L、糖蜜15g/L、蔗糖20g/L、琼脂20g/L的配方制备预培养基,将预培养基的pH值调整至5.3备用;

[0037] 按照葡萄糖15g/L、蛋白胨30g/L、麦芽糖20g/L、牛肉膏5g/L、麦芽膏粉60g/L的配方制备液体培养基,将液体培养基的pH值调整至5.5备用;

[0038] (2) 将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中,在30℃条件下培育7d,得到预培养的耻垢分枝杆菌;

[0039] (3) 将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,在34℃、120r/min的条件下培育18h,得到耻垢分枝杆菌菌液;

[0040] (4) 将耻垢分枝杆菌菌液12份、葡萄糖2份、牛肉膏1份、水60份和17 $\alpha$ -羟基黄体酮25份的体积比混合,培育得到11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -双羟黄体酮。

[0041] 结果:利用高效液相色谱检测,结果显示17 $\alpha$ -羟基黄体酮的转化率为94%。

[0042] 实施例2

[0043] (1) 按照葡萄糖30g/L、蛋白胨15g/L、糖蜜5g/L、蔗糖10g/L、琼脂30g/L的配方制备预培养基,将预培养基的pH值调整至5.5备用;

[0044] 按照葡萄糖10g/L、蛋白胨35g/L、麦芽糖30g/L、牛肉膏7g/L、麦芽膏粉40g/L的配方制备液体培养基,将液体培养基的pH值调整至5.8备用;

[0045] (2) 将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中,在32℃条件下培育5d,得到预培养的耻垢分枝杆菌;

[0046] (3) 将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,在30℃、140r/min的条件下培育30h,得到耻垢分枝杆菌菌液;

[0047] (4) 将耻垢分枝杆菌菌液12份、葡萄糖2份、牛肉膏1份、水81份、坎利酮1份、丙二醇2份和吐温-80 1份的体积比混合,培育得到11 $\alpha$ -羟基坎利酮。

[0048] 结果:利用高效液相色谱检测,结果显示坎利酮的转化率为87%。

[0049] 实施例3

[0050] (1) 按照葡萄糖25g/L、蛋白胨17g/L、糖蜜10g/L、蔗糖15g/L、琼脂25g/L的配方制备预培养基,将预培养基的pH值调整至5.4备用;

[0051] 按照葡萄糖13g/L、蛋白胨32g/L、麦芽糖25g/L、牛肉膏6g/L、麦芽膏粉50g/L的配方制备液体培养基,将液体培养基的pH值调整至5.7备用;

[0052] (2) 将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中,在31℃条件下培育6d,得到预培养的耻垢分枝杆菌;

[0053] (3) 将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,在32℃、130r/min的条件下培育24h,得到耻垢分枝杆菌菌液;

[0054] (4) 将耻垢分枝杆菌菌液12份、葡萄糖2份、牛肉膏1份、水60份和17 $\alpha$ -羟基黄体酮25份的体积比混合,培育得到11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -双羟黄体酮。

[0055] 结果:利用高效液相色谱检测,结果显示17 $\alpha$ -羟基黄体酮的转化率为96%。

[0056] 由以上实施例可知,本发明提供了一种耻垢分枝杆菌菌液及其制备方法和在制备甾体类药物中间体中的应用,所述耻垢分枝杆菌菌液的制备方法包括如下步骤:(1) 将耻垢分枝杆菌接种到预培养基中培育,得到预培养的耻垢分枝杆菌;(2) 将预培养的耻垢分枝杆菌接种到液体培养基中培育,得到耻垢分枝杆菌菌液。本发明制备的耻垢分枝杆菌菌液能够用于甾体类药物中间体的生产,高效催化甾体类药物中间体原料的转化,有效降低生产过程中的污染。

[0057] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应

视为本发明的保护范围。