



(21) 申请号 202210591486.5

(22) 申请日 2022.05.27

(71) 申请人 湖北葛店人福药业有限责任公司

地址 436070 湖北省鄂州市葛店经济技术
开发区湖北葛店人福药业有限责任公
司

(72) 发明人 何鑫 艾勇泉 陈海林 刘林

杨艳青 郑承刚 邓霞飞

(74) 专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限

公司 42102

专利代理师 李艳景

(51) Int. Cl.

C12P 7/38 (2006.01)

B01D 19/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种左炔诺孕酮中间体的酶催化合成体系
及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种左炔诺孕酮中间体的酶催化合成体系及应用,其组成及含量范围为:磷酸氢二钾1.800-5.900g/L,磷酸二氢钾0.775-2.325g/L,葡萄糖38.500-115.500g/L,吐温600.100-0.188g/L,曲拉通X-100 13.500-40.500g/L,消泡剂0.050-0.150g/L。使用本发明的反应催化体系,可以保证底物的乳化,且同时可降低产物的乳化,能够显著促进反应转化率,提高反应产物的收率,高达95%。

1. 一种左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成体系,其特征在于:各组分的浓度如下:

磷酸氢二钾 1.800-5.900g/L

磷酸二氢钾 0.775-2.325g/L

葡萄糖 38.500-115.500g/L

吐温 60 0.100-0.188g/L

曲拉通 X-100 13.500-40.500g/L

消泡剂助剂 0.050-0.150g/L。

2. 根据权利要求1所述的酶催化合成体系,其特征在于:所述的消泡剂助剂选自聚醚消泡剂、聚硅氧烷消泡剂、酯化型消泡剂、聚氧丙烯甘油醚消泡剂或复合高效消泡剂。

3. 根据权利要求1所述的酶催化合成体系,其特征在于:所述的消泡剂助剂为聚硅氧烷消泡剂、聚氧丙烯甘油醚消泡剂或复合高效消泡剂,更优选为复合高效消泡剂。

4. 根据权利要求1所述的酶催化合成体系,其特征在于:所述的复合高效消泡剂为聚硅氧烷消泡剂、聚氧丙烯甘油醚消泡剂中的一种以上与聚硅氧烷消泡剂、酯化型消泡剂中的一种以上混合的复合消泡剂。

5. 权利要求1所述的酶催化合成体系在左炔诺孕酮中间体乙基羟化物酶催化合成中的应用,应用方法为:在酶催化合成体系中加入底物乙基缩合物,加入酶催化合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶液,催化合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物。

6. 一种左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成方法,其特征在于:在权利要求1所述的左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成体系中加入底物乙基缩合物、酮基还原酶、葡萄糖脱氢酶和NADP,催化反应,过滤得到产物乙基羟化物固体。

7. 根据权利要求6所述的酶催化合成方法,其特征在于:所述的酶催化反应为25-35℃反应24-48h。

8. 一种左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成反应液,其特征在于:由权利要求1所述的酶催化合成体系、酶催化合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶液和底物乙基缩合物组成。

9. 根据权利要求8所述的酶液,其特征在于,所述酶液为酮基还原酶、葡萄糖脱氢酶和NADP的水溶液,体系中酮基还原酶为3-4g/L,葡萄糖脱氢酶为0.5-1.0g/L,NADP为0.15-0.20g/L;体系中底物浓度为50-100g/L。

10. 权利要求8所述的酶催化合成反应液的制备步骤:磷酸氢二钾、磷酸二氢钾和葡萄糖以固体形式加入,用定量的水混匀后,在搅拌状态下加入吐温-60、曲拉通X-100和消泡剂助剂,最后加入底物乙基缩合物和酶液,得到酶催化反应合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成反应液。

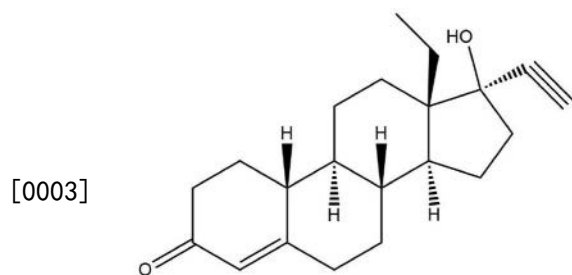
一种左炔诺孕酮中间体的酶催化合成体系及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及制药领域,具体涉及一种左炔诺孕酮中间体的酶催化合成体系及应用。

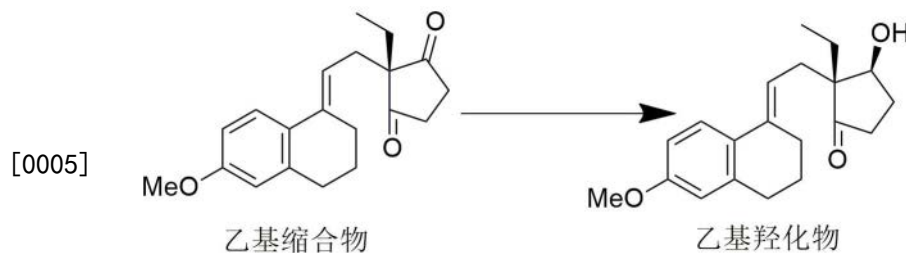
背景技术

[0002] 左炔诺孕酮(Levonorgestrel)结构如式1所示,是人工合成的甾体化合物,主要用作探亲避孕药和紧急避孕药。也可以用于治疗月经不调,子宫功能性出血及子宫内膜异位症等。



式 1

[0004] 乙基羟化物是左炔诺孕酮的关键中间体,目前有细胞催化和酶催化的合成方法,如式2所示。细胞催化采用啤酒酵母,但是因为菌种的选择性差,培养条件苛刻,反应时间长,收率也不高,所以不利于工业化生产。酶催化则采用酮基还原酶进行催化反应,选择性高,反应时间短,条件温和,收率高。



式 2

[0006] 但乙基羟化物在水中的溶解度低,而酶液主要存在于水相,导致底物乙基缩合物和酶不能充分接触。为此,一般都通过添加表面活性剂,促使底物转化完全,但会使产物在水相中的溶解度增加,使产物和表面活性剂难以分离,降低最终的收率,增加生产成本。

发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种左炔诺孕酮中间体的酶催化合成体系及催化合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的方法。

[0008] 为实现上述目的,本发明采取的技术方案是:

[0009] 一种左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成体系,各组分的浓度如下:

	磷酸氢二钾	1.800-5.900g/L
	磷酸二氢钾	0.775-2.325g/L
[0010]	葡萄糖	38.500-115.500g/L
	吐温 60	0.100-0.188g/L
	曲拉通 X-100	13.500-40.500g/L
	消泡剂助剂	0.050-0.150g/L

[0011] 按上述方案,上述酶催化合成体系中消泡剂助剂选自聚醚消泡剂、聚硅氧烷消泡剂、酯化型消泡剂、聚氧丙烯甘油醚消泡剂、复合高效消泡剂。优选为聚硅氧烷消泡剂、聚氧丙烯甘油醚消泡剂、复合高效消泡剂,更优选为复合高效消泡剂。

[0012] 所述的复合高效消泡剂为聚硅氧烷消泡剂、聚氧丙烯甘油醚消泡剂中的一种以上与聚硅氧烷消泡剂、酯化型消泡剂中的一种以上混合的复合消泡剂。

[0013] 上述酶催化合成体系在左炔诺孕酮中间体乙基羟化物酶催化合成中的应用,应用方法为:在酶催化合成体系中加入底物乙基缩合物,加入酶催化合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶液,催化合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物。

[0014] 一种左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成方法,在上述的左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成体系中加入酮基还原酶,葡萄糖脱氢酶和NADP,催化反应,过滤得到产物乙基羟化物固体。

[0015] 所述的酶催化反应为25-35℃反应24-48h。

[0016] 一种左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成反应液,由上述的酶催化合成体系、酶催化合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶液和底物乙基缩合物组成。

[0017] 按上述方案,体系中底物浓度为50-100g/L。

[0018] 所述酶液为酮基还原酶、葡萄糖脱氢酶和NADP的水溶液,体系中酮基还原酶为3-4g/L,葡萄糖脱氢酶为0.5-1.0g/L,NADP为0.15-0.20g/L。

[0019] 上述酶催化合成反应液的制备步骤:磷酸氢二钾、磷酸二氢钾和葡萄糖以固体形式加入,用定量的水混匀后,在搅拌状态下加入吐温-60、曲拉通X-100和消泡剂助剂,最后加入底物和酶液,得到酶催化反应合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成反应液。

[0020] 本发明所述的左炔诺孕酮中间体的酶催化合成体系及其制备方法目前还未见报道。本发明通过特定消泡剂助剂的选择,及其与其他各组分的配合(其中:磷酸氢二钾和磷酸二氢钾主要负责维持酶催化反应体系的pH的稳定性及缓冲反应期间产物造成的pH波动,葡萄糖提供反应的供氢动力,吐温60和曲拉通X-100主要负责乳化底物),而提供的左炔诺孕酮中间体乙基羟化物的酶催化合成体系,用于合成左炔诺孕酮中间体乙基羟化物,反应的转化率高,收率高。

[0021] 消泡剂通常用作发酵反应的泡沫抑制剂,从这点来说,本发明的酶催化反应体系本身不需要添加消泡剂。然而,我们意外地发现在本发明体系中添加特定消泡剂助剂后,起到了破坏产物乳化的作用,可使得生成的乙基羟化物在消泡剂助剂的作用下,从乳化状态剥离出来,形成了不溶粉末状固体产物,且与此同时底物乙基缩合物却不会受消泡剂的影响。

响,不会产生其他的负影响,由此达到了促进产物向正方向移动,同时提高反应的转化率和收率的目的。

[0022] 本发明以乙基缩合物为底物,通过表面活性剂吐温60和曲拉通X-100的乳化作用,将其乳化为乳状液滴,增大了与水相的接触面积,通过催化剂酮基还原酶的催化,夺取NADPH的氢离子,得到产物乙基羟化物,失去氢离子的NADP在葡萄糖脱氢酶的作用下,催化氧化为NADPH,完成酶催化反应的循环。在此过程中,生成的乙基羟化物在消泡剂的作用下,从乳化状态剥离出来,形成了不溶粉末状固体产物,同时底物乙基缩合物却不会受消泡剂的影响,不仅不会影响反应的进行,还会促进反应的进行。反应机理见图1所示。

[0023] 本发明优点在于:

[0024] 本发明的酶催化反应体系得到的产物的纯度高、收率高,可直接用于工业化生产。相比于不含消泡剂助剂的体系(产率81.8%)相比,产率显著提高,可提高到90-95%左右。

附图说明

[0025] 图1是酶催化反应体系的机理图。

[0026] 图2是未添加消泡剂和不同种类消泡剂的酶催化体系,反应后物料的起泡及沉降情况。

具体实施方式

[0027] 下面结合具体实施方式,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。此外应理解,在阅读了本发明记载的内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0028] 对比例1

[0029] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物16.36g,产率81.8%,纯度98.4%。

[0030] 实施例1

[0031] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.04g聚醚消泡剂。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物17.80g,产率89.0%,纯度98.6%。

[0032] 实施例2

[0033] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.04g聚硅氧烷消泡剂。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥

后得到产物18.58g,产率92.9%,纯度98.7%。

[0034] 实施例3

[0035] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.04g酯化型消泡剂。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物18.00g,产率90.0%,纯度98.9%。

[0036] 实施例4

[0037] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.04g聚氧丙烯甘油醚消泡剂。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物19.00g,产率95.0%,纯度98.9%。

[0038] 实施例5

[0039] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.04g复合高效消泡剂(型号为THI X-298,购自烟台恒鑫化工科技有限公司)。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物19.00g,产率95.5%,纯度99.5%。

[0040] 实施例6

[0041] 称取46.2g的葡萄糖、0.72g磷酸氢二钾和0.93g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.075g的吐温60和16.2g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.06g复合高效消泡剂(型号为THI X-298,购自烟台恒鑫化工科技有限公司)。待反应液完全搅拌均匀后,加入40g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物38.08g,产率95.2%,纯度99.6%。

[0042] 实施例7

[0043] 称取46.2g的葡萄糖、0.72g磷酸氢二钾和0.93g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.075g的吐温60和16.2g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.06g复合高效消泡剂(型号为THI X-298,购自烟台恒鑫化工科技有限公司)。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.6g,葡萄糖脱氢酶0.4g,NADP 0.08g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物19.08g,产率95.4%,纯度99.5%。

[0044] 对比例2

[0045] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.04g天然油脂型消泡剂。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干

燥后得到产物16.03g,产率80.2%,纯度98.4%。

[0046] 对比例3

[0047] 称取30.8g的葡萄糖、2.36g磷酸氢二钾和0.62g磷酸二氢钾,加入到三口烧瓶中。再加入400mL的水,搅拌0.5h。将0.05g的吐温60和10.8g的曲拉通X-100加到正在搅拌的体系中,再加入0.04g破乳剂聚合氯化铝。待反应液完全搅拌均匀后,加入20g的乙基缩合物,酮基还原酶1.2g,葡萄糖脱氢酶0.2g,NADP 0.06g。停止搅拌底物完全沉淀。在30℃反应24h。过滤得到产物固体,干燥后得到产物19.8g,纯度4%。

[0048] 通过对比可以发现,体系添加的消泡剂助剂不同,反应后物料的起泡情况和沉降情况不同,起泡明显不利于产物收率的提升,沉降效果越好说明产物从乳化体系剥离出来的效果越佳。天然油脂型消泡剂的破乳效果最差,产物仍处于乳化状态。

[0049] 进一步经比较,本发明体系的消泡剂助剂优选为聚硅氧烷消泡剂、聚氧丙烯甘油醚消泡剂、复合高效消泡剂,更优选为复合高效消泡剂。复合高效消泡剂具有最佳的产物沉降效果,产率最高。

[0050] 本发明中所采用的酮基还原酶、葡萄糖脱氢酶和NADP均购自苏州汉酶生物技术有限公司。

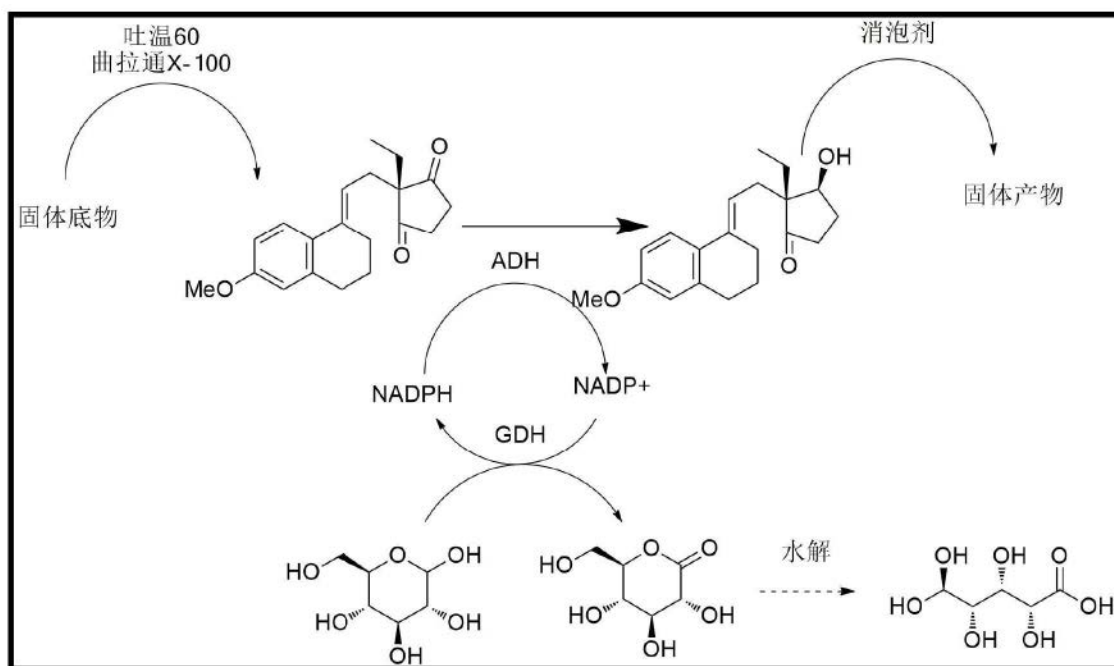
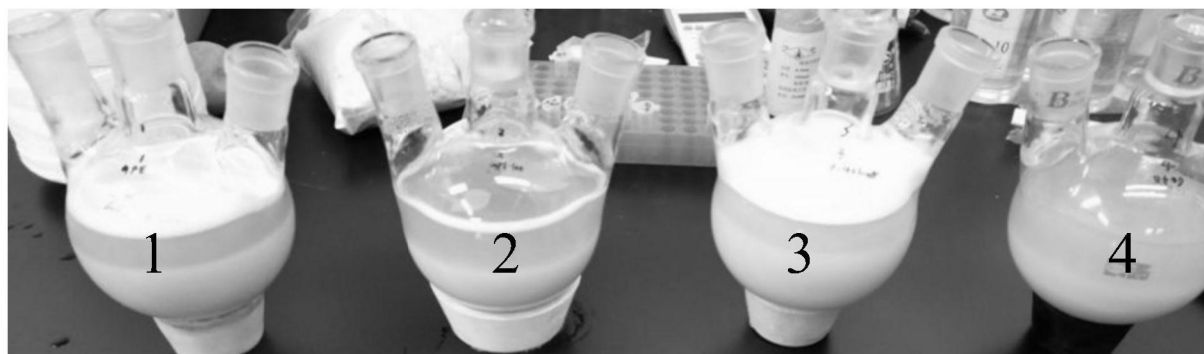


图1



实施例 1 实施例 2 实施例 3 实施例 4



对比例 1 实施例 5 对比例 2



对比例 3

图2