



(10) 授权公告号 CN 114957367 B

(45) 授权公告日 2023. 12. 29

(21) 申请号 202210594618.X

(22) 申请日 2022.05.27

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 114957367 A

(43) 申请公布日 2022.08.30

(73) 专利权人 黄冈人福药业有限责任公司

地址 436070 湖北省黄冈市黄州区火车站
经济开发区知青路一号

(72) 发明人 刘明欣 何鑫 陈海林 刘林
杨艳青

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

专利代理师 黄益澍

(51) Int. Cl.

C07J 1/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 109627274 A, 2019.04.16

CN 1101915 A, 1995.04.26

JP S562999 A, 1981.01.13

US 2005142221 A1, 2005.06.30

CN 106589032 A, 2017.04.26

CN 108997464 A, 2018.12.14

FR 2999576 A1, 2014.06.20

WO 2017093980 A1, 2017.06.08

Patrice C. Peart et al..”

Hydroxylation of steroids by *Fusarium oxysporum*, *Exophiala jeanselmei* and *Ceratocystis paradoxa*”.《Steroids》.2011,第76卷第1317-1330页.

Zachary A. Shalit et al..”From an ent-Estrane, through a nat-Androstane, to the Total Synthesis of the Marine-Derived delta8,9-Pregnene (+)-03219A”.《Org. Lett.》.2021,第23卷第2248-2252页.

林素素. “链霉菌来源细胞色素P450酶的甾体羟基化及晶体结构研究”.《中国优秀硕士学位论文全文数据库(电子期刊) 工程科技I辑》.2023,第B016-3877页.

陈小明. “微生物转化植物甾醇生产甾酮的研究”.《中国优秀硕士学位论文全文数据库(电子期刊) 工程科技I辑》.2007,第B016-371页.

审查员 肖宇彦

权利要求书2页 说明书8页 附图7页

(54) 发明名称

一种生物法制备甾酮的精制方法

(57) 摘要

本发明公开了一种生物法制备的甾酮粗品的精制方法,其包括以下步骤:(1)将干燥的甾酮粗品与醇混匀,升温至60℃以上,使所述甾酮粗品完全溶解并出现絮状变性蛋白沉淀;(2)加入包含活性炭的助滤剂以吸附所述絮状变性蛋白沉淀;过滤收集滤液,滤饼用甲醇淋洗;(3)滴加纯水,混匀后升温至60℃以上,浓缩并回收85wt%的醇溶液;搅拌降温至8℃以下析晶出大量固体,过滤收集滤饼;依次用乙醇和纯水淋洗,滤饼干燥后得甾酮精品。本发明的精制方法对生物法制备的甾酮粗品中K杂及A杂精制效果明显,成品甾酮中K杂含量<0.15%,A杂含量<0.05%,符合最新EP10.1标准;成品收率能够达

到93%及以上。

1. 一种生物法制备的睾酮粗品的精制方法,其特征在于,其包括以下步骤:

(1) 将干燥的睾酮粗品与醇混匀,升温至60℃以上,升温的同时进行搅拌和回流的处理,使所述睾酮粗品完全溶解并出现絮状变性蛋白沉淀;所述醇为甲醇或乙醇;所述睾酮粗品由细胞转化方法或酶催化方法制得,通过过滤收集;所述醇与睾酮粗品的体积质量比为:(5~8):1;

(2) 加入包含活性炭的助滤剂以吸附所述絮状变性蛋白沉淀;过滤收集滤液,滤饼上少量残留的睾酮用甲醇淋洗;所述包含活性炭的助滤剂为活性炭和硅藻土,或活性炭和纤维素;所述硅藻土和活性炭的用量比为1:1,所述纤维素和活性炭的用量比为3:5;所述包含活性炭的助滤剂与睾酮粗品的用量比为(4~5):15;

(3) 滴加纯水,混匀后升温至60℃以上,浓缩并回收85wt%的醇溶液,所述纯水与睾酮粗品的体积质量比为(5~10):6;搅拌降温至8℃以下析晶出大量固体,过滤收集滤饼;依次用乙醇和纯水淋洗,滤饼干燥后得睾酮精品;用于淋洗的纯水与睾酮粗品的体积质量比为(5~10):1。

2. 如权利要求1所述的精制方法,其特征在于,所述精制方法的条件选自以下的一种或多种:

i) 步骤(1)~(3)中,所述过滤为抽滤;

ii) 步骤(1)和(3)中,所述干燥为真空干燥。

3. 如权利要求1所述的精制方法,其特征在于,步骤(1)中,当所述醇为甲醇时,升温至70℃以上。

4. 如权利要求1所述的精制方法,其特征在于,所述吸附在恒温下搅拌进行。

5. 如权利要求1所述的精制方法,其特征在于,步骤(2)中,所述甲醇与睾酮粗品的体积质量比为(1~3):3。

6. 如权利要求5所述的精制方法,其特征在于,步骤(2)中,所述甲醇与睾酮粗品的体积质量比为2:3。

7. 如权利要求1~6任一项所述的精制方法,其特征在于,步骤(3)中,所述精制方法的条件选自以下组:

i) 所述纯水与睾酮粗品的体积质量比为5:6;

ii) 所述纯水的加入速度为2~10ml/min;

iii) 用于淋洗的纯水与睾酮粗品的体积质量比为(6~7):1。

8. 如权利要求7所述的精制方法,其特征在于,所述纯水的加入速度为5ml/min。

9. 如权利要求8所述的精制方法,其特征在于,步骤(3)中,所述精制方法的条件选自以下组:

i) 所述混匀在搅拌下进行;

ii) 所述浓缩为减压浓缩;

iii) 所述降温在搅拌下进行。

10. 如权利要求1所述的精制方法,其特征在于,步骤(3)中,所述精制方法的条件选自以下组:

i) 所述乙醇为冷冻的乙醇;

ii) 所述乙醇与睾酮的体积质量比为(0.5~2):3。

11. 如权利要求10所述的精制方法,其特征在于,步骤(3)中,所述乙醇与睾酮的体积质量比为1:3。

一种生物法制备睾酮的精制方法

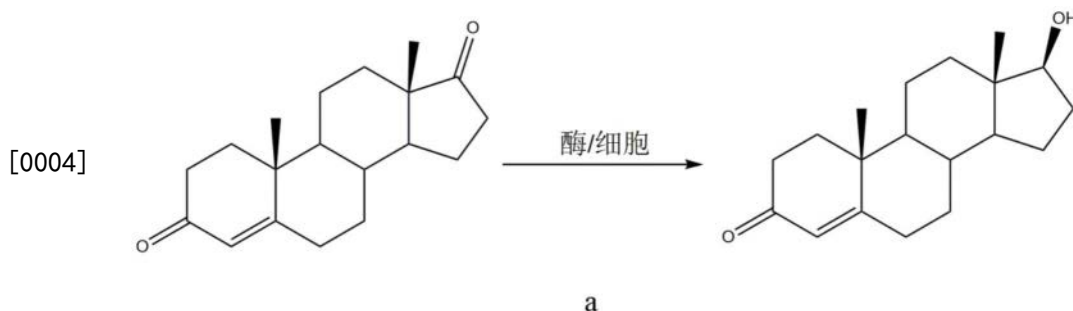
技术领域

[0001] 本发明涉及甾体药物制备技术领域,具体涉及一种用于生物法制备睾酮的精制方法。

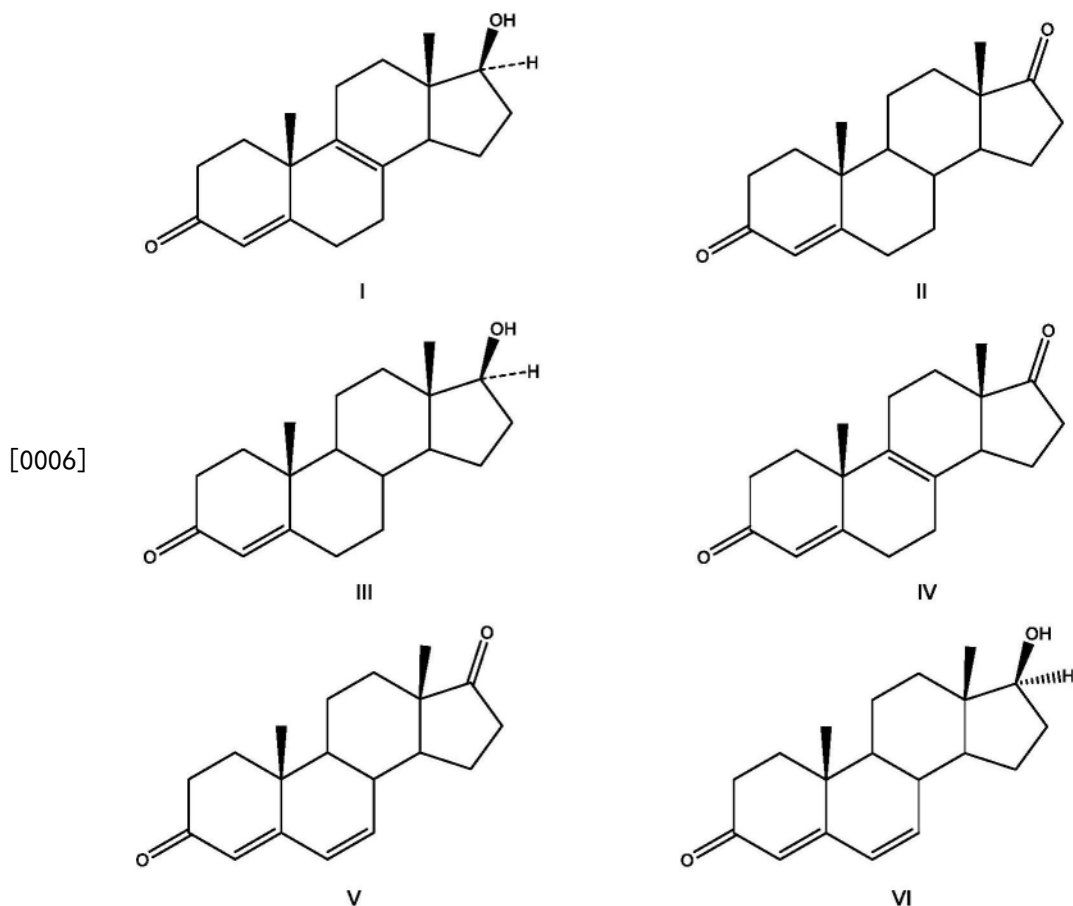
背景技术

[0002] 睾酮(如下式III所示)是一种激素类药物,属于甾体化合物,临床上作为性激素药物治疗原发性和继发性男性性腺功能减退,维持男性第二特征、性功能等。传统合成睾酮的方法是将双烯醇酮醋酸酯肟化、贝式反应、水解等步骤得到雄烯二酮,再以雄烯二酮为原料,经过两步反应得到睾酮粗品,由于从雄烯二酮合成睾酮需要先将3-酮基进行保护,再进行17-酮基还原,该方法步骤较多且粗品中杂质较多,精制成本较高。

[0003] 随着生物催化以及酶催化技术的发展,细胞转化以及酶催化法制备睾酮逐渐替代了化学合成的方法,利用细胞转化或者酶催化的方法,以雄烯二酮为底物,选择性还原17-酮基成 β -羟基,一步转化雄烯二酮到睾酮(路线a),简化了生产工艺以及节省了生产成本。



[0005] 但是在该反应中,原料中的K杂前体物质(式IV)也会被转化成K杂(式I),I杂前体物质(式V)也会被转化成I杂(式VI)。由于K杂(式I)结构与睾酮(式III)极度相似,导致生物法制备的睾酮(式III)中K杂(式I)和A杂(式II)较难除去,需要采用大量乙酸乙酯和正己烷析晶进行精制,工艺复杂且溶剂难以回收,成本较高。



[0007] 且该方法精制获得的甾酮不符合EP10.1的标准:K杂 $<0.15\%$,A杂 $<0.1\%$,其他单杂 $<0.1\%$ 。

发明内容

[0008] 为解决现有技术中生物法制备的甾酮精制产物不符合EP10.1的标准的的技术问题,本发明提供了一种用生物法制备甾酮的精制方法。所述精制方法特别是对甾酮中难以精制的K杂以及A杂具有较好的精制效果,成品甾酮中K杂含量 $<0.15\%$,A杂含量 $<0.05\%$,符合甾酮最新EP10.1标准:K杂 $<0.15\%$,A杂 $<0.1\%$ 。且所用工艺精制工艺较为简单,易于溶剂回收,降低了成本,在优选的技术方案中最后成品收率能够达到96%及以上。

[0009] 为解决上述技术问题,本发明提供的技术方案为:

[0010] (1) 将干燥的甾酮粗品与醇混匀,升温至 60°C 以上,使所述甾酮粗品完全溶解并出现絮状变性蛋白沉淀;

[0011] (2) 加入包含活性炭的助滤剂,吸附(1)的溶液中的絮状变性蛋白沉淀;过滤收集滤液,滤饼上少量残留的甾酮用甲醇淋洗;

[0012] (3) 向上述溶液中滴加纯水,混匀后升温至 60°C 以上,浓缩并回收85wt%的醇溶液;搅拌降温至 8°C 以下析晶出大量固体,过滤收集滤饼;依次用乙醇和纯水淋洗,将滤饼干燥后得甾酮精品。

[0013] 在一些具体的实施例中,所述醇包括甲醇、乙醇、乙二醇、异丙醇或正丁醇或由它们组成的混合溶剂。

[0014] 在一些具体的实施例中,所述包含活性炭的助滤剂中还包括石棉、石墨粉、锯屑、

酸性白土、珍珠岩、泥浆、淀粉、硅藻土、造纸、氧化镁、石膏、纤维素和氢氧化铝中的一种或多种。

[0015] 在一些具体的实施例中,所述精制方法的条件选自以下组:

[0016] i) 步骤(1)中,所述醇为甲醇或乙醇;

[0017] ii) 步骤(2)中,所述包含活性炭的助滤剂为活性炭和硅藻土,或活性炭和纤维素。

[0018] 在一些具体的实施例中,步骤(1)中,所述睾酮粗品由细胞转化方法或酶催化方法制得。

[0019] 在一些具体的实施例中,步骤(1)中,所述睾酮粗品通过过滤收集。

[0020] 在一些具体的实施例中,步骤(1)中,所述升温的同时进行搅拌和回流的处理。

[0021] 在一些具体的实施例中,所述过滤为抽滤。例如步骤(1)、(2)和(3)中的过滤均采用抽滤进行。

[0022] 在一些具体的实施例中,所述干燥为真空干燥。例如步骤(1)和(3)中均采用真空干燥的方法。

[0023] 在一些具体的实施例中,步骤(1)中,所述醇与睾酮粗品的体积质量比为:(4~12):1,优选采用(5~8):1。

[0024] 在一些具体的实施例中,步骤(1)中,当所述醇为甲醇时,升温至70℃以上。

[0025] 在一些具体的实施例中,步骤(2)中,所述吸附在搅拌下进行。

[0026] 在一些具体的实施例中,步骤(2)中,包含活性炭的助滤剂与睾酮粗品的用量比为(4~5):15。

[0027] 在一些具体的实施例中,步骤(2)中,所述硅藻土和活性炭的用量比为1:1,或,所述纤维素和活性炭的用量比为3:5。

[0028] 在一些具体的实施例中,步骤(2)中,所述甲醇与睾酮粗品的体积质量比为:(1~3):3,优选为2:3。

[0029] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,纯水与睾酮粗品的体积质量比为(5~10):6,优选为5:6。

[0030] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,纯水的加入速度为2~10ml/min;例如为5ml/min。

[0031] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,用于淋洗的纯水与睾酮的体积质量比为(5~10):1;优选为(6~7):1。

[0032] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,所述混匀在搅拌下进行。

[0033] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,所述浓缩为减压浓缩。

[0034] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,所述降温在搅拌下进行。

[0035] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,所述乙醇为冷冻的乙醇;例如5~8℃的乙醇。

[0036] 在一些具体的实施例中,步骤(3)中,所述乙醇与睾酮的体积质量比为(0.5~2):3;优选为1:3。

[0037] 在符合本领域常识的基础上,上述各优选条件,可任意组合,即得本发明各较佳实例。本发明所用试剂和原料均市售可得。

[0038] 本发明的积极进步效果在于:本发明的精制方法对生物法制备的睾酮粗品中K杂及A杂精制效果明显,成品睾酮中K杂含量<0.15%,A杂含量<0.05%,精制成品符合最新

EP10.1标准。成品收率能够达到93%及以上,在优选的技术方案中,成品收率能够达到96%及以上。

附图说明

[0039] 图1为细胞转化方法得到的睾酮的HPLC图谱;其中A为睾酮粗品;B为活性炭和硅藻土助滤精制的睾酮精品。

[0040] 图2为酶催化方法得到的睾酮的HPLC图谱;其中A为睾酮粗品;B为活性炭和硅藻土助滤精制的睾酮精品。

[0041] 图3为乙醇精制的睾酮的HPLC图谱;其中A为睾酮粗品;B为乙醇精制的睾酮精品。

[0042] 图4为活性炭和纤维素助滤精制的睾酮的HPLC图谱;其中A为睾酮粗品;B为活性炭和纤维素助滤精制的睾酮精品。

[0043] 图5为用于化学法精制的睾酮粗品的HPLC图谱。

[0044] 图6为乙酸乙酯和正己烷析晶精制的睾酮精品HPLC图谱。

[0045] 图7为乙酸乙酯析晶精制的睾酮精品HPLC图谱。

[0046] 图8为丙酮精制的睾酮精品HPLC图谱。

[0047] 图9为异丙醇精制的睾酮精品HPLC图谱。

具体实施方式

[0048] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,按照常规方法和条件,或按照商品说明书选择。

[0049] 实施例1细胞转化方法得到的睾酮粗品的精制

[0050] 第一步:将含有睾酮的1L细胞发酵液通过过滤收集睾酮粗品,粗品大约30g,将睾酮粗品进行真空干燥后,加入240mL甲醇,搅拌下升温至70℃回流1h,直至物料完全溶解并出现絮状变性蛋白沉淀。

[0051] 第二步:向上述溶液中添加5g硅藻土和5g活性炭,维持恒温状态搅拌使不溶物(即絮状变性蛋白沉淀)被助滤剂吸附,过滤收集滤液。滤饼上少量残留的睾酮用20mL甲醇淋洗。

[0052] 第三步:向上述溶液中以5ml/min的速率滴加纯净水25mL,搅拌均匀后升温至60℃,减压浓缩出85wt%的甲醇溶液并回收,搅拌降温至8℃以下析晶出大量固体,抽滤收集滤饼,用10ml冷冻乙醇淋洗后,再用200mL纯净水淋洗,将滤饼真空干燥后得睾酮精品。

[0053] 收率大于96%,HPLC送检纯度高于99.8%,K杂及A杂限度符合EP10.1标准。睾酮粗品HPLC图谱见图1的A和表1,睾酮精品HPLC图谱见图1的B和表2。

[0054] 表1细胞转化睾酮粗品HPLC

[0055]

峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	杂质含量
1	2.685	0.290	26269	0.528	溶剂峰	/
2	7.953	0.858	20785	0.418	K杂	0.418%
3	8.400	0.906	4952	0.100	未知杂	0.1%
4	9.269	1.000	4872808	97.997	睾酮	

	5	13.402	1.446	47569	0.957	A杂	0.857%
[0056]	表2细胞转化睾酮精品HPLC						
[0057]	峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	精制后含量
	1	7.948	0.858	16134	0.118	K 杂	0.118%
	2	8.395	0.906	13248	0.04	未知杂	0.04%
[0058]	3	9.268	1.000	13595788	99.82	睾酮	
	4	13.390	1.445	4994	0.037	A 杂	0.037%

[0059] 实施例2酶催化方法得到的睾酮粗品的精制

[0060] 第一步:将含有30g睾酮粗品的酶催化转化液300mL过滤,收集睾酮粗品,将睾酮粗品进行真空干燥后,加入240mL甲醇,搅拌下升温至70℃回流1h,直至物料完全溶解并出现絮状变性蛋白沉淀。

[0061] 第二步:向上述溶液中添加5g硅藻土和5g活性炭,维持恒温状态搅拌使不溶物被助滤剂吸附,过滤收率滤液,滤饼上少量残留的睾酮用20mL甲醇淋洗。

[0062] 第三步:向上述溶液中以5ml/min的速率滴加纯净水25mL,搅拌均匀后升温至60℃,减压浓缩出85wt%的甲醇溶液并回收,搅拌降温至8℃以下析晶出大量固体,抽滤收集滤饼,用10ml冷冻乙醇淋洗后,再用200mL纯净水淋洗,将滤饼真空干燥后得睾酮精品,收率大于96%,HPLC送检纯度高于99.8%,K杂及A杂限度符合EP10.1标准。睾酮粗品HPLC图谱见附图2的A和表3,睾酮精品HPLC图谱见图2的B和表4。

[0063] 表3酶催化睾酮粗品HPLC

[0064]	峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	杂质含量
	1	2.693	0.290	3201	0.030	溶剂杂	/
	2	7.965	0.857	25489	0.242	K杂	0.242%
	3	8.412	0.906	6911	0.066	未知杂	0.066%
	4	9.289	1.000	10407259	98.991	睾酮	
	5	13.438	1.447	70500	0.671	A杂	0.671%

[0065] 表4酶催化睾酮精品HPLC

[0066]	峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	精制后杂质含量
	1	7.948	0.858	9144	0.098	K 杂	0.098%
	2	8.395	0.906	8372	0.04	未知杂	0.04%
[0067]	3	9.268	1.000	10866955	99.80	睾酮	
	4	13.390	1.445	4580	0.042	A 杂	0.042%

[0068] 实施例3睾酮粗品乙醇的精制

[0069] 第一步:将含有30g睾酮粗品的酶催化转化液300mL过滤,收集睾酮粗品,将睾酮粗品进行真空干燥后,加入240mL乙醇溶液(乙醇>95%),搅拌下升温至60℃回流1h,直至物料完全溶解并出现絮状变性蛋白沉淀。

[0070] 第二步:向上述溶液中添加5g硅藻土和5g活性炭,维持恒温状态搅拌使不溶物被助滤剂吸附,过滤收集滤液,滤饼上少量残留的睾酮用20mL甲醇淋洗。

[0071] 第三步:向上述溶液中以5ml/min的速率滴加纯净水25mL,搅拌均匀后升温至60℃,减压浓缩出85wt%的乙醇溶液并回收,搅拌降温至8℃以下析晶出大量固体,抽滤收集滤饼,用10ml冷冻乙醇淋洗后,再用200mL纯净水淋洗,将滤饼真空干燥后得睾酮精品,收率大于93%,HPLC送检纯度高于99.8%,K杂及A杂限度符合EP10.1标准。睾酮粗品HPLC图谱见图3的A和表5,睾酮精品HPLC图谱见图3的B和表6。

[0072] 表5酶催化睾酮粗品HPLC

[0073]

峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	杂质含量
1	2.693	0.290	3201	0.030	溶剂杂	/
2	7.965	0.857	25489	0.242	K杂	0.242%
3	8.412	0.906	6911	0.066	未知杂	0.066%
4	9.289	1.000	10407259	98.991	睾酮	
5	13.438	1.447	70500	0.671	A杂	0.671%

[0074] 表6酶催化睾酮精品HPLC

[0075]

峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	精制后杂质含量
1	7.948	0.858	9144	0.098	K杂	0.098%
2	8.395	0.906	8372	0.04	未知杂	0.04%
3	9.268	1.000	10866955	99.80	睾酮	
4	13.390	1.445	4580	0.042	A杂	0.042%

[0076]

[0077] 实施例4睾酮粗品活性炭和纤维素助滤精制

[0078] 第一步:将含有30g睾酮粗品的酶催化转化液300mL过滤,收集睾酮粗品,将睾酮粗品进行真空干燥后,加入240mL甲醇,搅拌下升温至70℃回流1h,直至物料完全溶解并出现絮状变性蛋白沉淀。

[0079] 第二步:向上述溶液中添加3g纤维素和5g活性炭,维持恒温状态搅拌使不溶物被助滤剂吸附,过滤收率滤液,滤饼上少量残留的睾酮用20mL甲醇淋洗。

[0080] 第三步:向上述溶液中以5ml/min的速率滴加纯净水25mL,搅拌均匀后升温至60℃,减压浓缩出85wt%的甲醇溶液并回收,搅拌降温至8℃以下析晶出大量固体,抽滤收集滤饼,用10ml冷冻乙醇淋洗后,再用200mL纯净水淋洗,将滤饼真空干燥后得睾酮精品,收率大于93%,HPLC送检纯度高于99.8%,K杂及A杂限度符合EP10.1标准。睾酮粗品HPLC图谱见图4的A和表7,睾酮精品HPLC图谱见图4的B和表8。

[0081] 表7酶催化睾酮粗品HPLC

[0082]

峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	杂质含量
1	2.742	0.290	15654	0.030	溶剂杂	/
2	8.245	0.856	22231	0.242	K杂	0.242%
3	8.713	0.905	7418	0.066	未知杂	0.066%
4	9.632	1.000	7145895	98.991	睾酮	
5	13.926	1.446	36157	0.671	A杂	0.671%

[0083] 表8酶催化睾酮精品HPLC

[0084]	峰号	保留时间	相对保留时间	面积	面积%	杂质种类	精制后杂质
							含量
	1	7.982	0.858	10130	0.103	K 杂	0.103%
[0085]	2	8.430	0.906	6804	0.071	未知杂	0.074%
	3	9.308	1.000	9560738	99.82	睾酮	
	4	13.454	1.446	3453	0.036	A 杂	0.036%

[0086] 实施例5对比实验

[0087] 如未特殊说明,以下的精制方法使用的睾酮粗品不限于化学法、细胞转化方法或酶催化方法得到的睾酮粗品。

[0088] 5.1乙酸乙酯和正己烷析晶精制:

[0089] 取睾酮粗品(图5) 10g,添加5~8倍体积的乙酸乙酯(50~80mL),搅拌下升温70℃直至物料完全溶解。

[0090] 过滤除去变性蛋白收集滤液,保温1h后向溶液中缓慢滴加3~5倍体积的正己烷(30~50mL),缓慢降温至10℃左右,有大量固体析出。

[0091] 过滤收集睾酮精品,60℃烘干至恒重。

[0092] 收率在80~85%之间,精制效果:K杂含量变化:0.223%→0.200%;A杂含量变化:0.534%→0.101%;其余单杂>0.1%(图6)。该方法精制的睾酮不符合EP10.1要求,且收率较低。

[0093] 5.2乙酸乙酯析晶精制:

[0094] 取睾酮粗品(图5) 10g,添加5~8倍体积的乙酸乙酯(50~80mL),搅拌下升温至70℃直至物料完全溶解。

[0095] 过滤除去变性蛋白收集滤液,将滤液真空浓缩溶剂至剩余1~2倍体积乙酸乙酯,有大量固体析出。

[0096] 降温析晶后过滤收集睾酮精品,60℃烘干至恒重。

[0097] 收率在80~85%之间,精制效果:K杂含量变化:0.212%→0.187%;A杂含量变化:0.534%→0.052%;其余单杂>0.1%(图7)。该方法精制的睾酮不符合EP10.1要求,且收率较低。且经试验发现,该方法针对生物法合成的睾酮不具有精制效果,同样不满足EP0.1中K杂规定的限度。

[0098] 5.3丙酮精制:

[0099] 取睾酮粗品(图5) 10g,添加6~9倍体积的丙酮(60~90mL),搅拌下升温50℃至物料完全溶解。

[0100] 过滤除去变性蛋白收集滤液,将滤液真空浓缩溶剂至剩余1倍体积丙酮,有大量固体析出。

[0101] 降温析晶后过滤收集睾酮精品,60℃烘干至恒重。

[0102] 收率为80%,精制效果:K杂含量变化:0.235%→0.112%,A杂含量变化:0.534%→0.252%(图8)。该方法精制的睾酮不符合EP10.1要求,且收率较低。

[0103] 5.4异丙醇精制:

[0104] 取酶催化方法合成的睾酮粗品(图5) 10g,添加5~8倍体积的异丙醇(50~80mL),搅拌下升温60℃至物料完全溶解。过滤除去变性蛋白收集滤液,按照睾酮质量向滤液中添

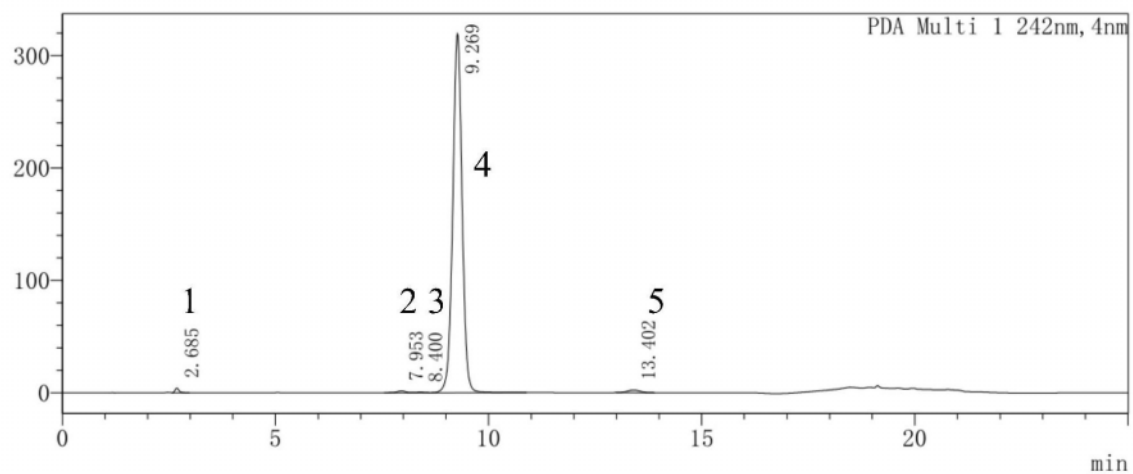
加50~70%的纯净水(5~7mL),减压浓缩溶剂至剩余2倍体积溶剂。

[0105] 降温析晶直至大量固体析出,过滤收集睾酮精品,60℃烘干至恒重。

[0106] 收率为90%,精制效果:K杂含量变化:0.235%→0.114%;A杂含量变化:0.534%→0.057%(图9)。该方法精制的睾酮符合EP10.1要求。

A

mAU



B

mAU

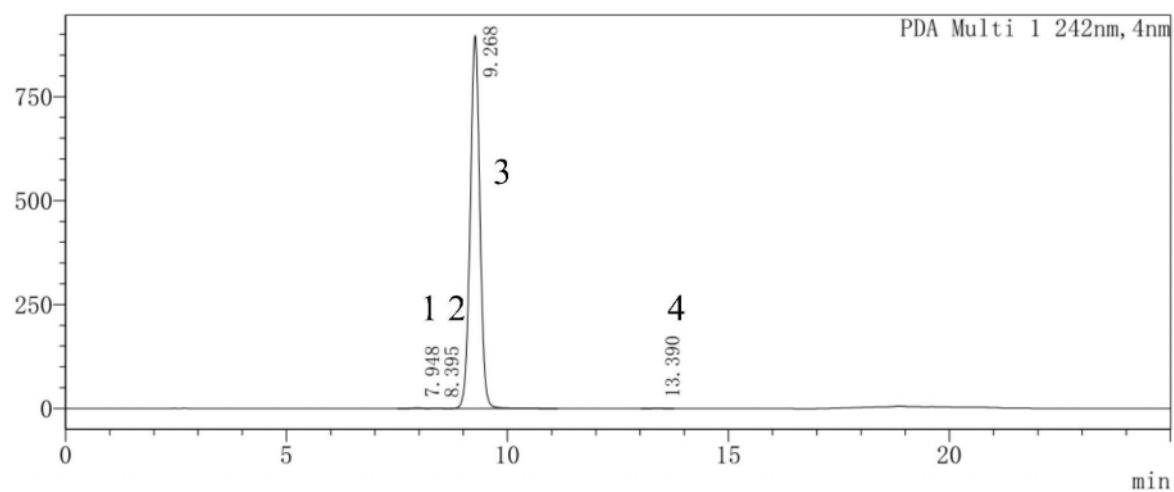
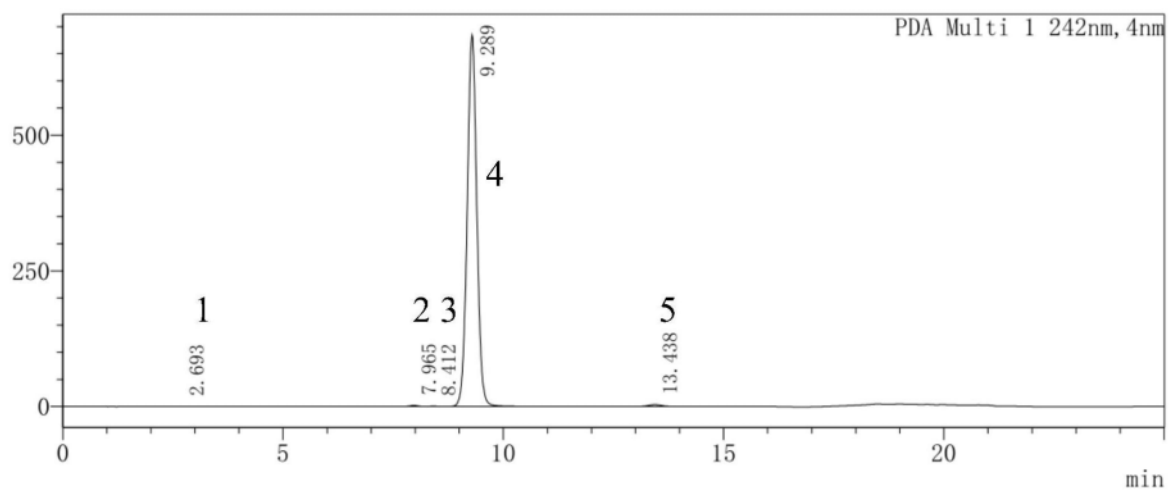


图1

A

mAU



B

mAU

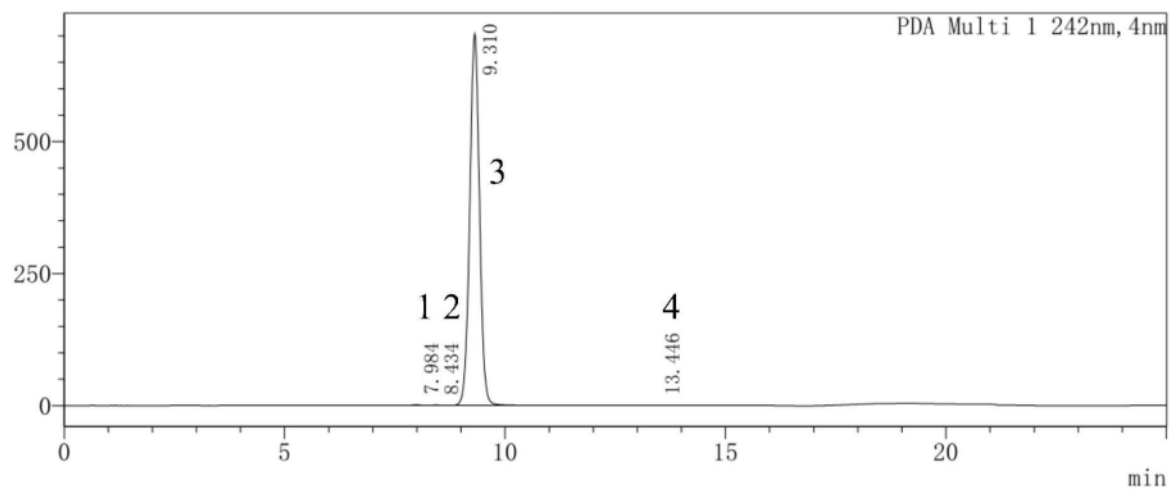
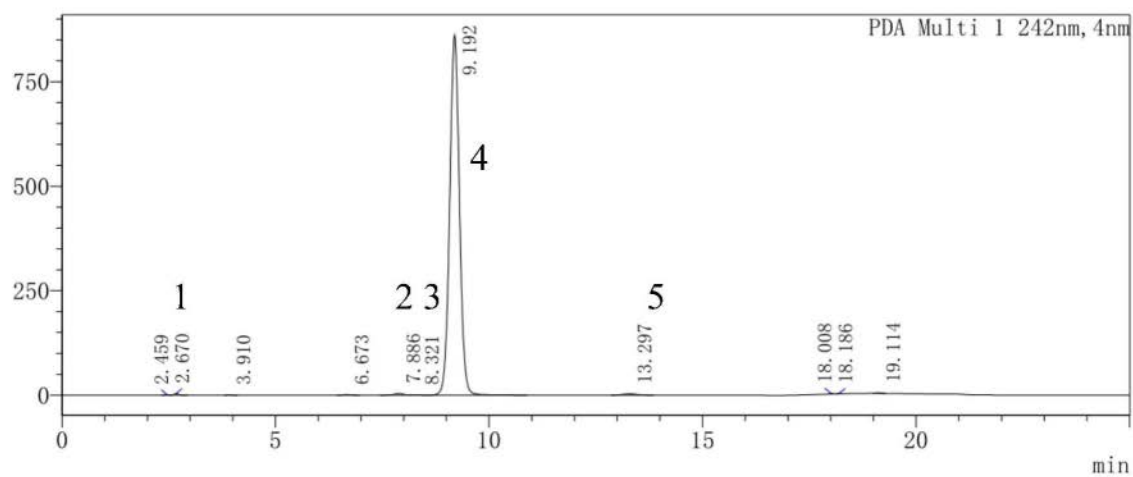


图2

A

mAU



B

mAU

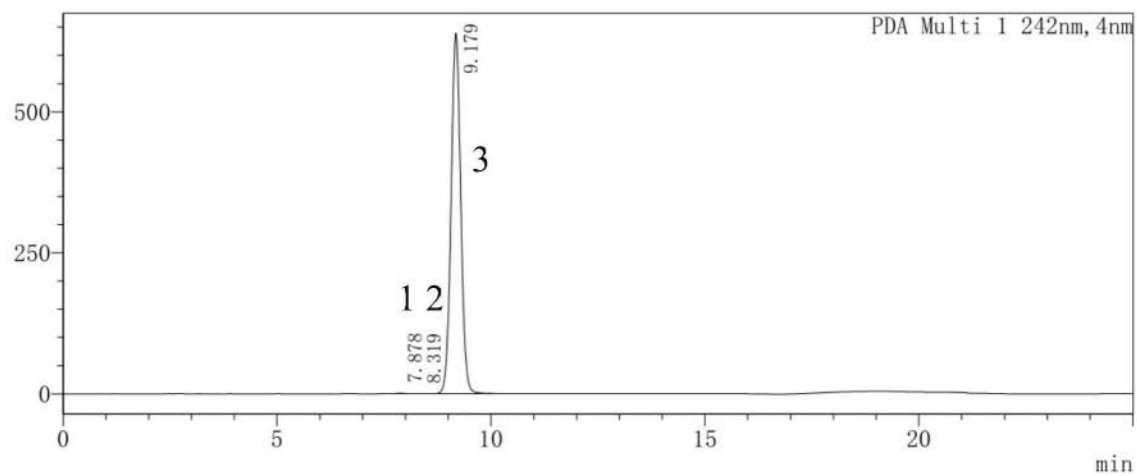
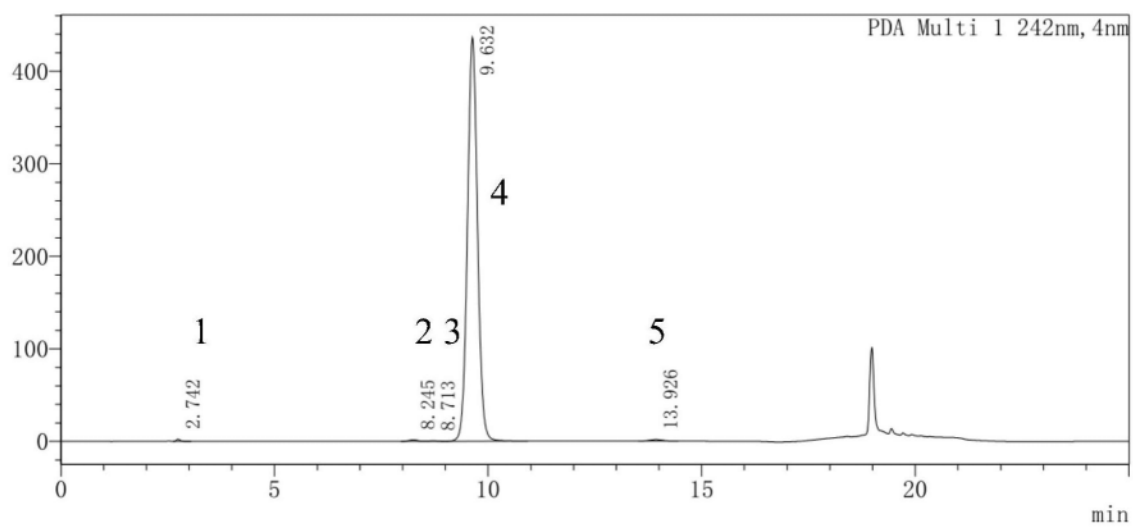


图3

A

mAU

**B**

mAU

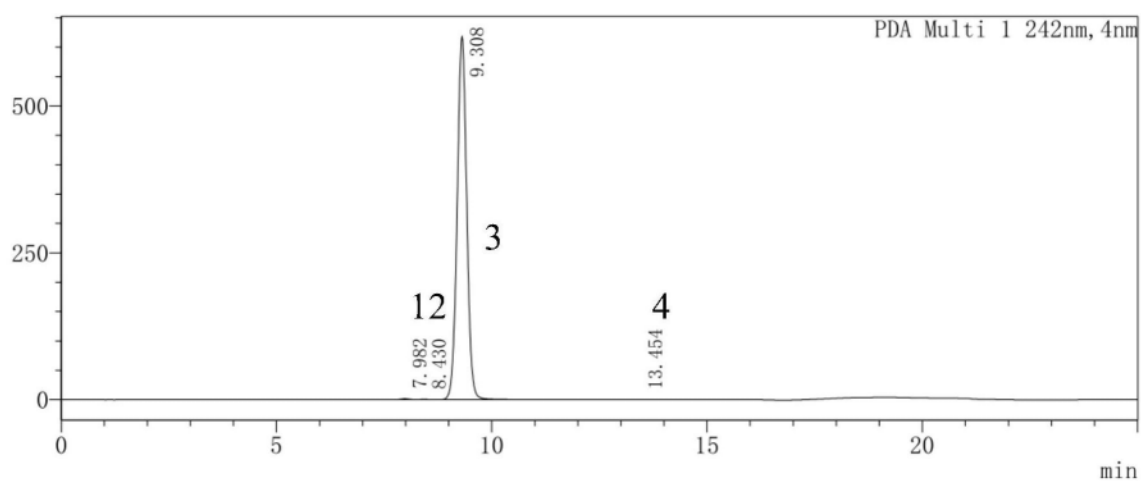


图4

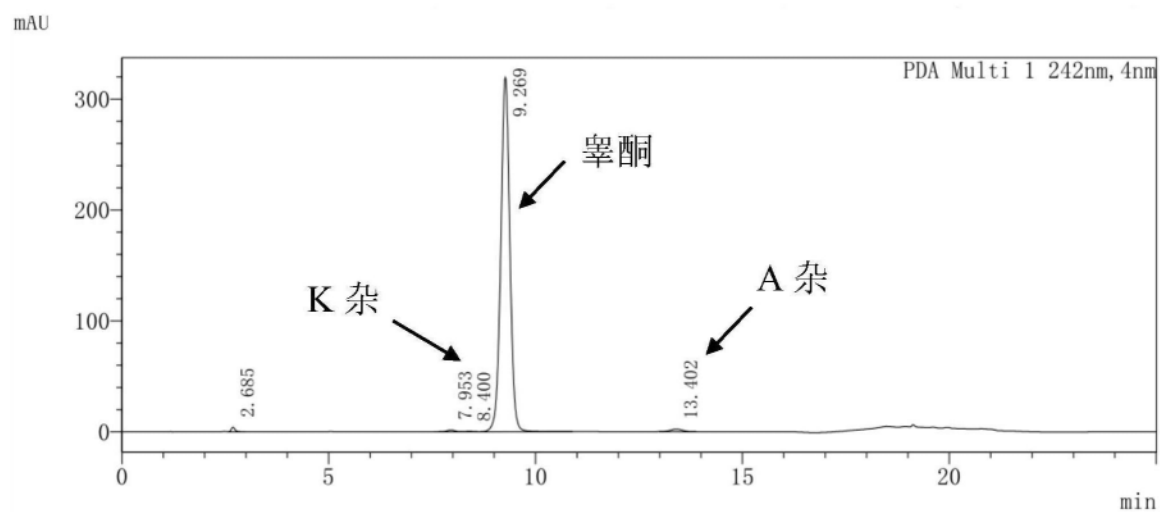


图5

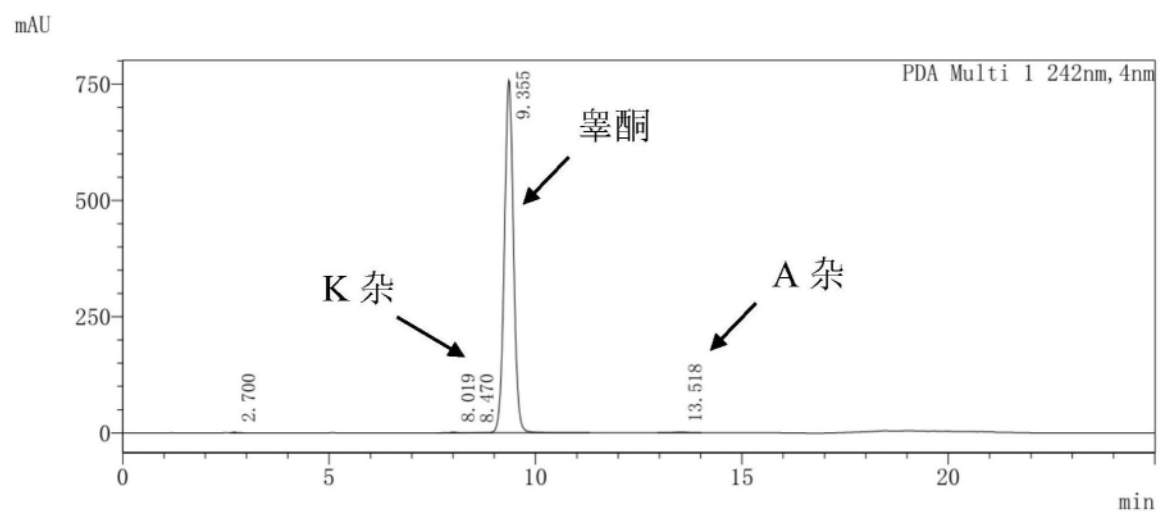


图6

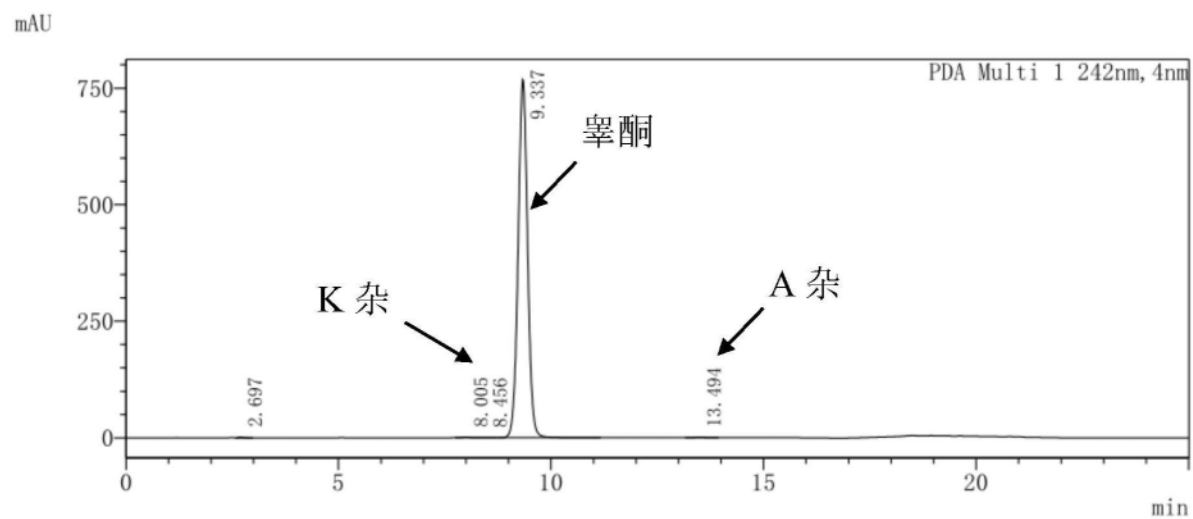


图7

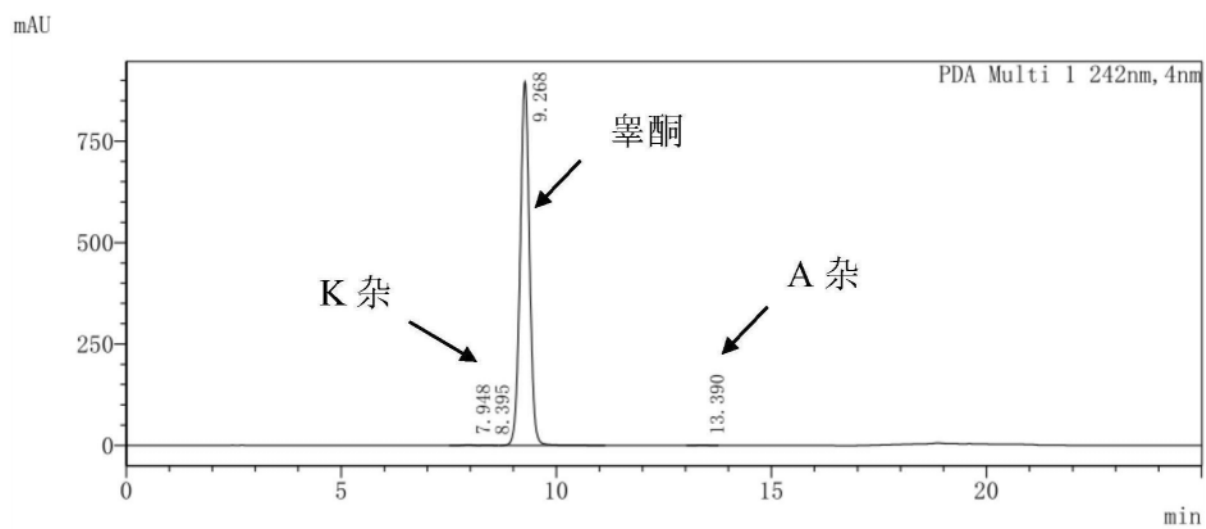


图8

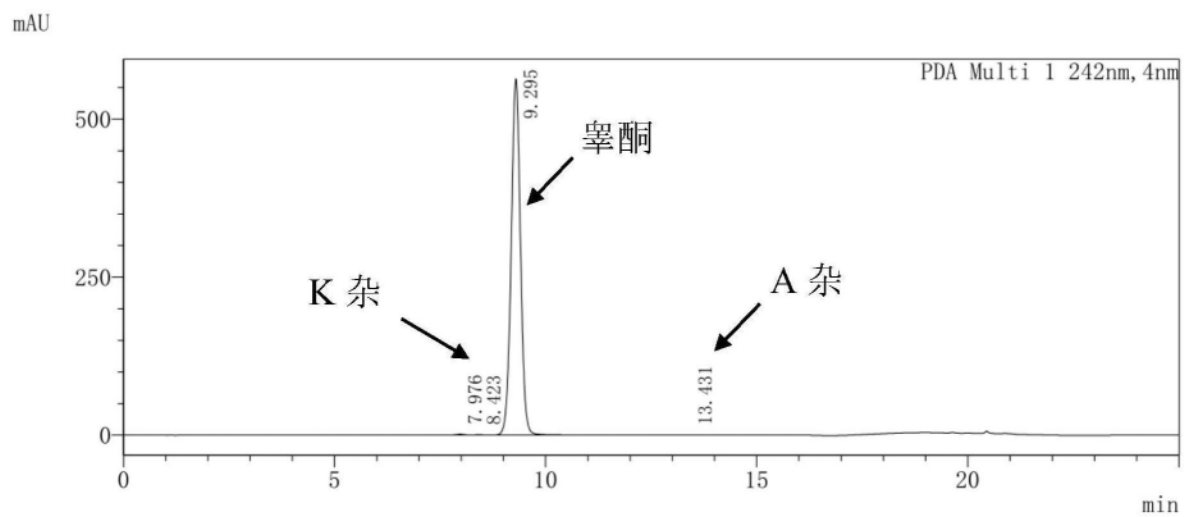


图9