

# 从化合物“S”合成氢化可的松双相发酵法实验\*

工人 冯汉昌 于连生

(湖北制药厂,襄樊)

从化合物“S”合成氢化可的松,一般是利用发酵氧化法,即在培养微生物时投入化合物“S”,使其11 $\beta$ 位氧化。但是,由于培养基中各种营养物质以及微生物代谢产物的影响,造成后处理工艺复杂。双相发酵法,是先培养微生物菌体,然后将菌体分离,置于蒸馏水中使化合物“S”在固液相中进行转化。实验证明,双相发酵法既可简化工艺,又能提高氧化速度。

## 实 验 过 程

试验 用菌株为淡紫梨头霉 (*Absidia orchidis*),经二级发酵培养18—20小时,当培养基pH降为3.5—3.8、菌丝体积占培养液体积的一半左右、显微镜观察形态正常、原生质丰满、分枝较多并且从菌丝上长出梨头状孢囊梗时,用60目尼龙网过滤,将菌体分离出来。经25—28℃清水洗涤,置于等于原培养液体积的蒸馏水中,加入化合物“S”(用95%乙醇18倍加热回流溶解),浓度为0.3%(W/V),调pH为5.0—5.5,再加入NaCl 0.15%, (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Mg 0.1%, KNO<sub>3</sub> 0.1% 和10<sup>-3</sup>抑制剂对氯苯双胍己烷(洗必泰)。于旋转式摇床(200转/分)28℃下进行氧化反应约20小时左右。最后分别加入0.3%的黄血盐和硫酸锌,以沉淀少量杂质蛋白,搅匀,静置30分钟,过滤,将澄清的滤液减压浓缩,得氢化可的松粗品,熔点190℃以上。

## 实 验 结 果

### (一) 在化合物“S”的氧化过程中 pH 不发生变化

在菌体对化合物“S”的氧化过程中,测定pH,并同发酵氧化法进行了比较(图1)。结果证明,在双相发酵法氧化化合物“S”过程中,pH不发生变化。这有利于11 $\beta$ 氧化和技术管理。pH的稳定可能由于梨头霉菌体中的糖、氮代谢基本停止,

无有机酸生成的原因。

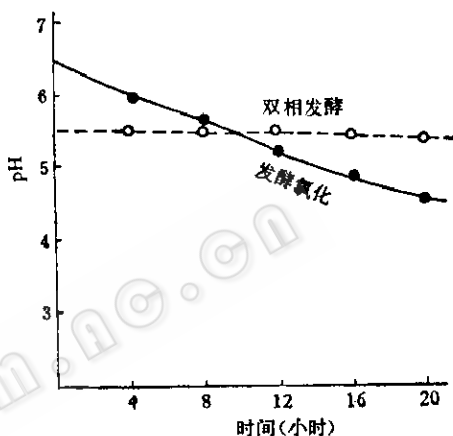


图1 化合物“S”氧化中 pH 变化

### (二) 提高对化合物“S”的氧化速度

在同样投料浓度下,双相发酵法与发酵氧化法相比较,氧化速度提高了1—2倍(图2),缩短

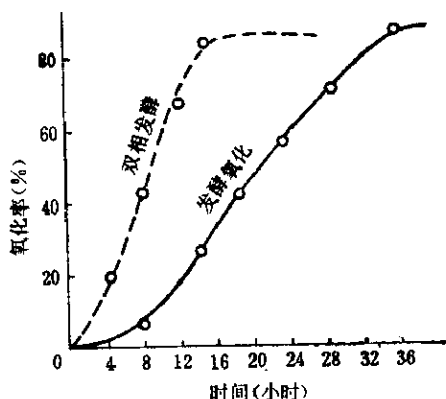


图2 双相发酵与发酵氧化速度  
(化合物“S”浓度为0.2%)

氧化率系测分光数据

本文于1975年11月17日收到。

\* 本实验曾得到本车间马新民、许乃由两同志协助,特此致谢。

了发酵周期。化合物“S”的投料浓度比原来提高1.20—1.25倍,提高了生产效率。

### (三) 菌体培养时间对氧化率的影响

菌体培养是促使11 $\beta$ -羟基氧化酶形成。实验证明,二级培养18—20小时,对化合物“S”氧化率最高(图3)。

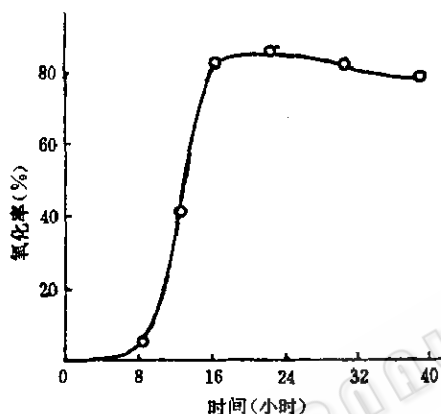


图3 菌体培养时间对氧化率影响  
(化合物“S”浓度0.3%)

### (四) 无机盐对氧化率的影响

实验指出,在氧化介质中加入无机盐,除维持

菌体细胞渗透压外,还能提高氧化率,并且无机盐的酸根不同,氧化率也不同(表1)。

表1 无机盐对氧化率影响

介 质	蒸 馏 水	蒸馏水+ A组	蒸馏水+ B组
氧化率 (%)	50	73	86

A组: NaCl 0.15%, KCl 0.1%, MgSO<sub>4</sub> 0.1%。

B组: NaCl 0.15%, KNO<sub>3</sub> 0.1%, (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Mg 0.1%。

化合物“S”浓度0.25%,氧化18小时。

### (五) 菌体培养基的碳源对氧化率的影响

培养菌体时,不同碳源对氧化酶的形成或活力有影响,因此在第二阶段对化合物“S”11 $\beta$ -羟基氧化的效果便不同(表2)。

表2 培养菌体的两种碳源对氧化率的影响

碳源	达最高氧化率时间 (小时)	氧化情况	过 滤 情 况	粗品熔点 (°C)
糊 精	16	稳 定	较 难	190
葡萄糖	30	不 稳 定	易	195