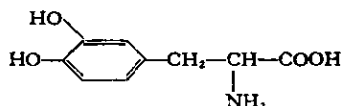


用微生物方法制左旋多巴

广州市微生物研究所工业微生物室

左旋多巴(L-dopa), 化学名为 β -(3,4-二羟苯基)
 α -丙氨酸, 化学结构式为

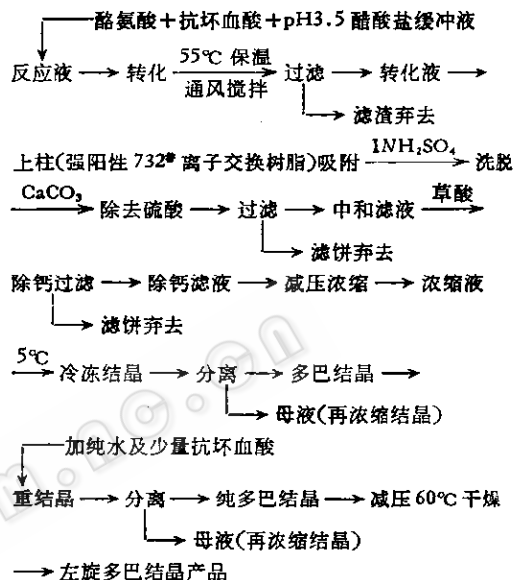
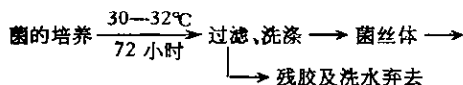


它是目前治疗震颤性麻痹(又称帕金森氏病)疗效较好的药物, 对一氧化碳中毒所引起的震颤性麻痹综合症亦有较好的疗效。因此, 左旋多巴(以下简称多巴)的出现曾被誉爲神经病学领域的一大进展。

1972年上海药物研究所从一种野生植物的种子藜豆中成功地提制出多巴, 并投入了生产。目前多巴的需要量比较大, 供不应求。我们利用微生物方法进行了将酪氨酸转化为多巴的研究, 发现化学酱油厂生产酱油的废渣中含有大量的酪氨酸。我们从废渣中提取酪氨酸, 用微生物将酪氨酸转化为多巴。

酪氨酸转化为多巴是利用酪氨酸酶在通气的条件下, 将酪氨酸氧化为多巴。转化率的高低主要决定于酪氨酸酶的数量和活力。经过试验和筛选, 我们找到了一株使酪氨酸的转化率稳定在90%的黄曲霉菌株。但是多巴很容易氧化破坏, 而且它的性质与酪氨酸又有很多相似的地方, 因此分离和提取多巴是比较困难的。经过反复试验, 使用离子交换树脂吸附、分离, 达到初步提纯, 然后浓缩结晶, 成功地试制出一批结晶的多巴。产品质量经检定符合标准。

工艺流程



试验条件及方法

一、菌丝体的培养

将用马铃薯琼脂培养基培养好的黄曲霉菌种, 用无菌水制成孢子悬浮液, 接入下面培养液中: 葡萄糖2%, NH_4Cl 0.3%, KH_2PO_4 0.3%, MgSO_4 0.02%, 酵母汁1%, 玉米浆1.2%, pH 5.5—6.0, 培养3天。

大罐发酵可先培育种子, 种子一般培养20小时左右, 接种量为5—7%, 种子培养基与发酵培养基相同。种子接入后, 培养2天。成熟的菌丝体放罐后过滤, 并用清水洗净, 甩干。菌丝体(鲜重)产率约为培养液的5—7%。

二、转化

反应系统: 菌丝体(鲜重)5%, (下转第22页)

(上接第 26 页)

L-酪氨酸 0.25%，抗坏血酸 0.5%，用醋酸缓冲液调 pH 3.5，转化温度 50—55℃，不断搅拌，通气量为 1:1，转化时间一般在 30—60 分钟，90% 以上的 L-酪氨酸可转化为多巴。当达到最高的转化率时，反应液很快就变成红色，随即变成黑色。当颜色开始改变时便要立即停止通入空气，并迅速降温，否则多巴将被氧化而破坏。转化液含多巴量一般为 0.23% 左右。

三、提纯与结晶

含多巴的转化液经过滤处理后，流经处理好的强阳性 732[#] 离子交换树脂柱，多巴与酪氨酸均被吸附，转化液全部上柱完毕后，用纯水将树脂洗涤 1—2 次，再用 1N H₂SO₄ 溶液将多巴从树脂中洗脱下来。洗脱

时多巴先被洗脱出来，当多巴差不多全部洗脱流出后，酪氨酸才从洗脱的溶液中出现。采用分段收集法便可以得到比较纯的多巴溶液。溶液中的 H₂SO₄ 可用 CaCO₃ 反应除去，过滤后，再用草酸除去溶解在溶液中微量的钙。最后将溶液抽入真空度在 700 毫米汞柱以上的薄膜蒸发器中进行浓缩。浓缩前在溶液中加入多巴量的 0.4 的 Na₂SO₄，以防止多巴在浓缩过程中受热氧化。浓缩至有多巴结晶析出时为止。将浓缩液冷冻至 5℃ 左右，多巴结晶就大量析出。分离出的多巴结晶，用水重结晶一次，便可以得到较纯的结晶多巴产品。

由于试验时间很短，不少因素和条件还在继续摸索之中。