

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 昭60-199391

⑬ Int. Cl. <sup>4</sup>	識別記号	庁内整理番号	⑭ 公開 昭和60年(1985)10月8日
C 12 P 7/50		8213-4B	
		7732-4B	
//(C 12 P 7/50		8213-4B	
C 12 R 1:06)		6760-4B	
(C 12 P 7/50		8213-4B	
C 12 R 1:72)		6760-4B	審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 ケトバント酸塩または／およびケトバントラクトンの製造方法

⑯ 特 願 昭59-55397

⑰ 出 願 昭59(1984)3月22日

⑱ 発 明 者 山 田 秀 明 京都市左京区松ヶ崎木ノ本町19-1  
 ⑲ 発 明 者 清 水 昌 京都市中京区西ノ京伯楽町14  
 ⑲ 発 明 者 畑 啓 之 加古川市上荘町国包189-1  
 ⑳ 出 願 人 製鉄化学工業株式会社 兵庫県加古郡播磨町宮西346番地の1

明 細 書

1. 発明の名称

ケトバント酸塩または／およびケトバントラク  
トンの製造方法

2. 特許請求の範囲

L-バント酸塩または／およびL-バントラク  
トンをアルスロバクター属、アシネ<sup>ト</sup>バクター属お  
よびキャンディダ属に属する微生物よりなる群よ  
り選ばれた、少なくとも1種の微生物により酸化  
することを特徴とするケトバント酸塩または／お  
よびケトバントラクトンの製造方法

3. 発明の詳細な説明

ケトバントラクトンは不斉還元によりバントテ  
ン酸、CoA等の重要な合成中間体であるD-バ  
ントラクトンへと導かれる。従来、ケトバントラ  
クトンは化学的に合成されたDL-バントラクト  
ンを臭素あるいは、次亜塩素酸カルシウム等の酸  
化剤を用いて化学的に合成される。しかしながら

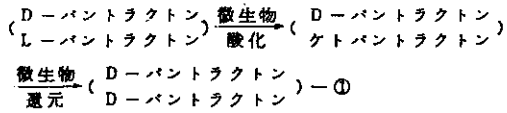
この方法では、酸化剤が高価であったり、バント  
テン酸、CoA等の出発原料であるD-バントラ  
クトンも同時に酸化されたりするため良い方法  
とはいえない。

このような欠点を改良するため、本発明者らは  
微生物の有する立体選択性に着目し、L-バント  
ラクトンのみを酸化してケイ体を与える菌株を探  
索し、スクリーニングの結果、特定の菌株がL-  
バントラクトンのみをケトバントラクトンへ導く  
ことを見出し、本発明に至った。本発明のように  
微生物を用いるバントラクトンの酸化に関する報  
告は現在までになされていない。

本発明の菌株を用いてDL-バントラクトンま  
たはL-バントラクトンを酸化すれば、D-バ  
ントラクトンは何ら変化することなく、L-バ  
ントラクトンだけがケトバントラクトンに変化する。

本発明は次式(1)で表わすことができ、得ら  
れたケトバントラクトンは、微生物学的な還元を極  
どこせば容易にD-バントラクトンとなり、(特

開昭59-25690参照)結果的にDL-パントラクトンからD-パントラクトンが得られることになる。



本発明の一例を説明すると、例えばグリセロール1.0%、ペプトン1.5%、酵母エキス0.3%、 $K_2HPO_4$  0.3%、NaCl 0.2% およびL-パントラクトン0.5% からなる液体培地5mlに斜面培地から *Acinetobacter calcoaceticus* (IFO 13006) の種菌を1白金耳量接種し、28℃で4日間、回転振盪機上で好氣的に培養した。このようにして得られた培養液は、遠心分離により菌体を取り除いたのち塩酸処理をほどこしてパント酸あるいはケトパント酸をパントラクトンあるいはケトパントラクトンへと還元し、ケトパントラクトンの生成量およびパントラクトン中のD-パントラクトンの割合をガスクロマトグラフィーで分

析した。D-パントラクトンの割合は、DL-パントラクトンをD-クロル炭酸メンチルによりジアステレオマーとしたのちガスクロマトグラフィーで分析することにより求めた(Anal. Biochem., 112, 9-16 (1981))

本発明の方法によれば、ケトパントラクトンを高収率で与える株は、アルスロバクター属、アシネトバクター属およびキャンディダ属に属していることがわかった。さらにこれらの菌株については、酸化反応と並行して、ケトパントラクトンのD-パントラクトンへの還元反応も同時に起っていることがわかった。

菌の培養条件は使用する菌株により多少異なるが、一般的に言えば炭素源としてグルコース、フラクトース、シュークロース、マルトース等の糖質、窒素源として、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸カリウム、尿素、アミノ酸、ペプトン、カザミノ酸、コーンスチープリッカー、ふすま、米ぬか、酵母エキス等、無機塩類として硫

酸マグネシウム、塩化ナトリウム、炭酸カルシウム、リン酸一水素カリウム、リン酸二水素カリウム等、他の栄養源として麦芽エキス、肉エキス、ファーマメディア等を含む培地が用いられるが、これらに限定されるものではない。この培地に菌を接種し、好氣的または嫌氣的に培養する。培養に適した温度は15~60℃が、さらに好ましくは、20~40℃である。通常2~6日の培養で菌を生育させるが、基質のDL-パントラクトンは培養初期から加えても良いし、数回に分けて添加する方が良い結果を与える場合もある。さらに培養液から取り出した菌体とパントラクトンの混合により反応を行なわせたり、acetone powderやdry cellに処理した菌体を用いたり、界面活性剤を添加する方法が良い結果を与える場合もある。基質のパントラクトンは、固体または水溶液あるいは、そのナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩等の形で添加する。培養のpHは4~9が、反応のpHは4~12が好ましい。中性~

アルカリ側ではケトパントラクトンの還元がおさえられケトパントラクトンの収率が高まる。

次に、本発明の製造方法の具体例を実施例により説明する。

#### 実施例1.

グリセロール1%、ペプトン1.5%、酵母エキス0.3%、 $K_2HPO_4$  0.3%、NaCl 0.2% およびL-パントラクトン0.5%よりなる液体培地をpH7.0とし、内径1.4cm、長さ16cmの試験管に分注し、オートクレーブ中で121℃で15分間、加熱滅菌した。ここに斜面培地から第1表に示す種菌を1白金耳量接種し、28℃で4日間、回転振盪機上で好氣的に培養した。このようにして得られた培養液を所定の方法で分析し、第1表の結果を得た。生成ケトパントラクトン以外は、パントラクトンである。パントラクトン中のD-パントラクトンの割合はD-ratio (%)で示した。

第 1 表

菌番号	菌名	クトバントラクトン収率 (%)	D-ratio (%)
IFO 12552	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	35.9	19.2
IFO 13006	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	50.2	28.5
IFO 3530	<i>Arthrobacter simplex</i>	53.7	30.5
IFO 12961	<i>Arthrobacter terregenes</i>	55.9	25.1

## 実施例 2

グルコース 5%, コーンステープリッカー 5%, L-バントラクトン 0.5% よりなる pH 6 の培地を用いた以外は、実施例 1. と同様に行ない、第 2 表の結果を得た。

第 2 表

菌番号	菌名	クトバントラクトン収率 (%)	D-ratio (%)
IFO 0587	<i>Candida tropicalis</i>	15.2	24.5
IFO 1403	<i>Candida tropicalis</i>	19.6	36.2

いた以外は、実施例 3. と同様に行ない第 4 表の結果を得た。

第 4 表

菌番号	菌名	クトバントラクトン収率 (%)	D-ratio (%)
IFO 12552	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	46.5	46.6
IFO 13006	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	47.2	30.7
IFO 3530	<i>Arthrobacter simplex</i>	58.4	42.9
IFO 12961	<i>Arthrobacter terregenes</i>	56.5	43.2

## 実施例 5.

実施例 3. の培地で 2 日間培養した菌体を用いて反応を行なった。試験管 2 本分 (5 ml × 2) の菌体に L-バントラクトンを 0.1 g (2%)、0.2 M のリン酸カリ緩衝液 (pH 7.0) 5 ml を加え、4 日間 28℃ で振盪した。この反応液を分析し、第 5 表の結果を得た。

## 実施例 3.

L-バントラクトンを含まない実施例 1. の液体培地を用いた。斜面培地から第 3 表に示す種菌を 1 白金耳量接種し、28℃ で 2 日間、回転振盪機上で好氣的に培養した。そこに 1 wt% となるように L-バントラクトンを添加し、さらに 4 日間振盪を続け第 3 表の結果を得た。

第 3 表

菌番号	菌名	クトバントラクトン収率 (%)	D-ratio (%)
IFO 12552	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	41.6	32.3
IFO 13006	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	48.3	45.6
IFO 3530	<i>Arthrobacter simplex</i>	55.5	38.8
IFO 12961	<i>Arthrobacter terregenes</i>	53.1	40.7

## 実施例 4.

グルコース 4%, ポリペプトン 1%, 酵母エキス 0.5%, リン酸二水素カリウム 0.5% および硫酸マグネシウム 0.2% よりなる pH 7 の培地を用

第 5 表

菌番号	菌名	クトバントラクトン収率 (%)	D-ratio (%)
IFO 12552	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	73.1	32.3
IFO 13006	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	76.5	40.8
IFO 3530	<i>Arthrobacter simplex</i>	72.2	32.7
IFO 12961	<i>Arthrobacter terregenes</i>	85.9	35.2

## 実施例 6.

実施例 5. で得た *Acinetobacter calcoaceticus* (IFO 13006) の菌体を用いて反応を行なった。反応時間を 6 日とした以外は、実施例 5. と同様である。分析の結果、反応液中にはクトバントラクトン、D-バントラクトンおよび L-バントラクトンがそれぞれ 56.9%, 42.8% および 0.3% の収率で含まれた。

## 実施例 7.

実施例 5. で得た菌体を用いて反応を行なった。試験管 2 本分 (5 ml × 2) の *Acinetobacter*

特開昭60-199391 (4)

calcoaceticus (IFO 13006) の菌体に L-パントラクトンを 0.1 g (2%), 0.2 M の K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 5 ml を加え、4 日間 28℃ で振盪した。この反応液を分析するとケトパントラクトン収率は 100% であった。

実施例 8.

実施例 7 と同じ方法で反応を行なった。100 ml スケールで培養した Acinetobacter calcoaceticus (IFO 13006) の菌体 2 本分と L-パントラクトン 2 g (2%), 0.2 M の K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 100 ml を加え、6 日間 28℃ で振盪した。反応終了後のケトパントラクトン収率は、100% であった。反応液より遠心分離により菌体を取り除いて得られた上清は、conc. HCl 10 ml を加え、80℃ で 15 分間加熱した。この液を酢酸エチル 100 ml で 2 回抽出し、得られた抽出油層は無水硫酸ナトリウムで一夜乾燥した。残渣をろ過して取り除いたのち減圧乾固によりケトパントラクトンの粗結晶 1.68 g (粗収率 85.3%) を得た。さらに四塩化炭素で

再結晶すると 1.52 g の板状結晶が得られた。(収率 77.2%), 融点は 66 ~ 68℃ であった。

実施例 9.

L-パントラクトンのかわりに D-L-パントラクトンを用いた以外は、実施例 5 と同様に行ない第 6 表の結果を得た。

第 6 表

菌番号	菌名	ケトパントラクトン収率 (%)	D-ratio (%)
IFO 12552	Acinetobacter calcoaceticus	46.3	88.0
IFO 13006	Acinetobacter calcoaceticus	47.5	89.7
IFO 3530	Arthrobacter simplex	44.8	91.8
IFO 12961	Arthrobacter terregenes	42.1	92.5

実施例 10.

L-パントラクトンのかわりに D-L-パントラクトンを用いた以外は、実施例 7 と同様に行なった。反応液の分析の結果、ケトパントラクトンおよび D-パントラクトンの収率は各々 49.7% お

よび 50.3% であった。

手続補正書 (自発)

昭和 59 年 4 月 20 日

特許庁長官 若杉和夫殿

1. 事件の表示

昭和 59 年特許願第 055397 号

2. 発明の名称

ケトパントラクトンまたはノおよびケトパントラクトンの製造方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

〒675-01

住所 兵庫県加古郡播磨町宮西 346 番地の 1

名称 製鉄化学工業株式会社  
(TEL0794-37-2151)

代表者 佐々木 浩

4. 補正の対象 明細書の発明の詳細な説明の項

5. 補正の内容

(1) 明細書第 2 頁第 7 行「ケイ体」を「ケト体」と補正する。

以上



出願人 製鉄化学工業株式会社

代表者 佐々木 浩