

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-44189

⑬ Int. Cl.⁴
C 12 P 13/00

識別記号 庁内整理番号
7236-4B※

⑭ 公開 昭和62年(1987)2月26日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 γ -ブチロベタインの製造方法

⑯ 特 願 昭60-185375

⑰ 出 願 昭60(1985)8月22日

⑱ 発 明 者	河 村	昌 男	明石市東朝霧丘18-10
⑲ 発 明 者	安 久 津	成 一	加古川市山手2-24-15
⑳ 発 明 者	福 田	博 介	姫路市飾磨区今在家1044
㉑ 発 明 者	畑	啓 之	加古川市上荘町国包189-1
㉒ 発 明 者	森 下	剛 志	姫路市飾磨区今在家1044
㉓ 発 明 者	叶	健 児	姫路市飾磨区今在家1044
㉔ 発 明 者	西 森	弘 訓	姫路市飾磨区今在家1044
㉕ 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

最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

γ -ブチロベタインの製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) D L-カルニチンあるいは、クロトノベタイン存在下に微生物を培養することにより、D L-カルニチンあるいは、クロトノベタインから γ -ブチロベタインを生産することを特徴とする γ -ブチロベタインの製造方法。

(2) 微生物が、エシエリヒア(Escherichia)属、エンテロバクター(Enterobacter)属、クレブシエラ(Klebsiella)属、エアロバクター(Aerobacter)属、エルビニア(Erwinia)属、セラチア(Serratia)属、プロテウス(Proteus)属、サルモネラ(Salmonella)属、アルカリゲネス(Alcaligenes)属、フラボバクテリウム(Flavobacterium)属、アクロモバクター(Achromobacter)属、バシラス(Bacillus)属、

アグロバクテリウム(Agrobacterium)属、アゾトバクター(Azotobacter)属、マイクロコッカス(Micrococcus)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium)属、スタフィロコッカス(Staphylococcus)属、シユードモナス(Pseudomonas)属、アルスロバクター(Arthrobacter)属、ブレヴィバクテリウム(Brevibacterium)属、セルロモナス(Cellulomonas)属、ハフニア(Hafnia)属、アセトバクター(Acetobacter)属、クロモバクテリウム(Chromobacterium)属、キサントモナス(Xanthomonas)属、ビブリオ(Vibrio)属、エアロモナス(Aeromonas)属、プロタミノバクター(Protaminobacter)属、アシネトバクター(Acinetobacter)属、シトロバクター(Citrobacter)属、バクテリウム(Bacterium)属、クロストリジウム(Clostridium)属、リゾビウム(Rhizobium)属、グルコノバクター(Gluconobacter)属、ストレプトコッカス(Streptococcus)属、ペディオコッカス(Pedio-

coccus) 属, ロイコノストック (Leuconostoc) 属, ラクトバシラス (Lactobacillus) 属, プロピオニバクテリウム (Propionibacterium) 属, エアロコッカス (Aerococcus) 属, マイコバクテリウム (Mycobacterium) 属, ノカルディア (Nocardia) 属, ストレプトマイセス (Streptomyces) 属よりなる群より選ばれた属に属する少なくとも一種の微生物である特許請求の範囲 (1) 記載の方法。

(3) 微生物の培養を嫌気条件下で行ない、シュクロース, マルトース, ガラクトース, グリセロール, 乳酸, 等の炭素源を添加することにより DL-カルニチンあるいは、クロトノベタインからアーブチロベタインを生産する特許請求の範囲 (1) 記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

[発明の目的]

本発明は、DL-カルニチンあるいはクロトノベタイン存在下で微生物を培養することにより、

ヨウ化メチル, ジメチル硫酸等を使用すること、また一般的に収率が低いこと等の欠点を有する。

(2) は、水素存在下の加圧反応であるため有利な工業的製造法とはいえない。その他アーブチロベタインの製造法について種々の報告があるが、いずれもそれを安価に提供する方法とはいえず、工業的に有利にアーブチロベタインを製造する方法はまだ知られていない。

[発明の構成]

そこで本発明者らは、エピクロルヒドリンより安価に製造できるDL-カルニチン、あるいはクロトノベタインに着目し、アーブチロベタインの新規製造法の開発を目的とし、鋭意検討を行なった結果、DL-カルニチン、あるいはクロトノベタイン存在下で、微生物を培養することにより、アーブチロベタインを生産しうることを見出した。

本発明は安価に、効率的にアーブチロベタインを工業的な規模で製造する新規な方法を提供する

DL-カルニチンあるいは、クロトノベタインからアーブチロベタインを生産する方法に関する。

(産業上の利用分野) (従来技術)

アーブチロベタイン (N-トリメチル-アーブチロアミノ酪酸) は、消化管の機能低下の見られる胃アトニー、慢性胃炎、低・無酸症、慢性便秘、その他、副交感神経の緊張の低下した諸疾患の治療薬である塩化カルプロニウムの原料として用いられる有用な物質である。

従来知られているアーブチロベタインの製造法としては、例えば以下のものがある。

(1) アーブチロアミノ酪酸をメチル化する方法。

(G. Lindstedt et al, ジャーナルオブバイオロジカルケミストリー (J. Biol. Chem.) 240 316 (1965))

(2) クロトノベタインを接触還元する方法。

(樽垣編, 医薬品合成マニュアル, 第1巻, P179, シーエムシー, 1979年)

しかしながら、(1) は高価なメチル化剤、例えば

ものである。

本発明において、DL-カルニチンあるいはクロトノベタインより、アーブチロベタインを生産せしめる能力を有する微生物としては、例えば エシエリヒア コリ IFO3301, エンテロバクター クロアカエ IFO3320, クレブシエラ ニューモニアエ IFO3512, エアロバクター クロアカエ IAM1134, エルビニア アロイデアエ IFO12380, セラチア マルセセンス IFO3736, プロテウス ブルガリス IFO3851, サルモネラ チフィムリウム IFO12529, アルカリゲネス フェカリス ATCC8750, フラボバクテリウム エステロアロマチカム IFO3751, アクロモバクター パルプラス IFO13181, バシラス スファエリカム IFO3526, アグロバクテリウム ラジオバクター IFO12664, アゾトバクター ビネランディ IFO12018, ミクロコッカス ロゼウス IFO3768, コリネバクテリウム ラサユ IFO12161,

スタフィロコッカス オーレウス IFO3060,
 シュードモナス マルギナリス IFO3925, ア
 ルスロバクター シンプレックス IFO12069,
 プレバクテリウム リネンス IFO12141, セ
 ルロモナス フラビダナ IFO3748, ハフニア
 アルベイ IFO3731, アセトバクター オル
 レアネンス IFO3259, クロモバクテリウム イ
 オディナム IFO3558, キサントモナス キャン
 ベストリス IFO13303, ビブリオ パラハエ
 モリチカス IFO12711, エアロモナス ハ
 イドロフィラ IFO12978, プロタミノバクタ
 ー アルゴフラバス IFO3707, アンネトバク
 ター カルコアセチカス IFO13006, シト
 ロバクター インターメデウス IFO13544,
 バクテリウム グラシル IFO3231, クロスト
 リジウム ブチリカム IFO3858, リゾビウム
 ジャボニカム IFO13338, グルコノバクタ
 ー セリナス IFO3264, ストレプトコッカス
 フェカリス IFO3128, ペディオコッカス

ベントサックス IFO3893, ロイコノストッ
 ク メセンテロイデス IFO3426, ラクトバシ
 ラス アシドフィラス IFO3205, プロビオニ
 バクテリウム テクニカム IFO12428, エア
 ロコッカス ビリダンス IFO12317, マイコ
 バクテリウム アビウム IFO3082, ノカルデ
 ィア アステロイデス IFO3423, ストレプト
 マイセス アルプス IFO13014, 等がある。

本発明に用いられる培地は、DL-カルニチン
 あるいは、クロトノベタインを含むほかは炭素源
 : 窒素源: 無機イオン等を含む通常の培地で
 ある。

ただし、DL-カルニチンあるいは、クロトノ
 ベタインは、あらかじめ培地中に含有させる必要
 はなく、培養のいずれかの時期に一度にあるいは
 分割して添加してもよい。

更にビタミン・アミノ酸等の有機微量栄養素を
 添加すると望ましい結果が得られる場合が多い。

炭素源としては、グルコース等の炭水化物、酢

酸等の有機酸、アルコール類、その他が使用でき
 る。

窒素源としては、アンモニウム塩、ペプトン、
 酵母エキス、コーンステイブリーカー等を用いる
 ことができる。

無機イオンとしては、マグネシウムイオン、燐
 酸イオン、カリウムイオン、その他が必要に応じて
 適宜使用できる。

更に嫌気条件下での培養時には、シュークロー
 ス、マルトース、ガラクトース、グリセロール、
 乳糖等を添加すると、反応収率が向上することが
 多い。

培養に適した温度は通常は、15~60℃、好適
 には25~40℃とするのがよい。

培地の初発pHは3~9、好適には5~8がよい
 結果を与える。

通常1~10日間の培養を行なえば望ましい結果
 が得られる。

以下に実施例をあげて本発明を具体的に説明す

る。

実施例1

表-1に記した微生物を0.3% KH_2PO_4 , 0.7
 % K_2HPO_4 , 0.1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.01%
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5% 酵母エキス, 0.5% ポ
 リペプトン, 0.5% クロトノベタイン, pH 7.0
 の組成の培地20mlに接種した後、密栓し温度30
 °Cで嫌氣的に72時間培養した。

培養終了後、培養液上清に含まれる γ -ブチロ
 ベタインを高速液体クロマトグラフィーを用いて
 定量した。結果を表-1に示す。

表 - 1

菌名	培養液中の ア-ブチロペタイン 濃度 (%)
エシエリヒア コリ IFO3301	0.33
エンテロバクター クロアカエ IFO3320	0.36
クレブシエラ ニューモニアエ IFO3512	0.30
エアロバクター クロアカエ IAM1134	0.31
エルビニア アロイデアエ IFO12380	0.21
セラチア マルセンサス IFO3736	0.16
プロテウス ブルガリス IFO3851	0.32
プロテウス ミテピリス ATCC12453	0.40
サルモネラ チフィムリウム IFO12529	0.34
アルカリゲネス ファエカリス ATCC8750	0.13
フラボバクテリウム エステロアロマトキカム IFO3751	0.26
アクロモバクター パルプラス IFO13181	0.14
バシラス スファエリカム IFO3526	0.18

菌名	培養液中の ア-ブチロペタイン 濃度 (%)
アグロバクテリウム ラジオバクター IFO12664	0.08
アゾバクター ビネランディア IFO12018	0.10
マイクロコッカス ロゼウス IFO3768	0.10
コリネバクテリウム ラサユ IFO12161	0.11
スタフィロコッカス オーレウス IFO3060	0.12
シュドモナス マルギナリス IFO3925	0.18
アルスロバクター シンプレックス IFO12069	0.11
プレビバクテリウム リネンス IFO12141	0.09
セルロモナス フラビグナ IFO3748	0.12
ハフニア アルベイ IFO3731	0.30
アセトバクター オルレアネンス IFO3259	0.09
クロモバクテリウム イオディナム IFO3558	0.12
キサントモナス キャンベストリス IFO13303	0.11
ビブリオ パラハエモリテリカス IFO12711	0.21
エアロモナス ハイドロフィラ IFO12978	0.22

菌名	培養液中の ア-ブチロペタイン 濃度 (%)
プロトアミノバクター アルポフラバス IFO3707	0.29
アシネトバクター カルコアセチカス IFO13006	0.21
シトロバクター インターメデウス IFO13539	0.33
バクテリウム グラシル IFO3231	0.26
クロストリジウム プチリカム IFO3858	0.10
リゾビウム ジャボニカム IFO13338	0.08
グルコバクター セリナス IFO3264	0.09
ストレプトコッカス ファエカリス IFO3128	0.21
ペディオコッカス ベントサシウス IFO3893	0.18
ロイコノストック メセンテロイデス IFO3426	0.10
ラクトバシラス アシドフィラス IFO3205	0.14
プロビオニバクテリウム テクニカム IFO12428	0.16
エアロコッカス ビリダンス IFO12317	0.20
マイコバクテリウム アビウム IFO3082	0.19

菌名	培養液中の ア-ブチロペタイン 濃度 (%)
ノカルディア アステロイデス IFO3423	0.10
ストレプトマイセス アルプス IFO13014	0.08

実施例 2

0.5% クロトノペタインを、0.5% DL-カルニチンに代えた以外は、実施例 1 に示したと同様の組成の培地、方法で表 - 2 に属する微生物を培養した。結果を表 - 2 に示す。

表 - 2

菌名	培養液中の ア-ブチロペタイン 濃度 (%)
エシエリヒア コリ IFO3301	0.16
エンテロバクター クロアカエ IFO3320	0.11
プロテウス ミテピリス ATCC12453	0.22

表 - 3

菌 株	培養液中の γ-アミノ酪氨酸 濃度 (%)
サルモネラ チフィムリウム IFO12529	0.18
シトロバクター インターメディアス IFO13539	0.14

実施例 3

プロテウス ミテピリス ATCC12453 を、
0.3% KH₂PO₄、0.7% K₂HPO₄、0.1%
(NH₄)₂SO₄、0.01% MgSO₄・7H₂O、0.5%
酵母エキス、0.5% ポリペプトン、2% クロトノ
ベタインに、表-3に示す化合物を0.2%加えた
組成の培地 20 ml (pH 7.0) に接種した後、密栓
し、温度 30℃ で嫌氣的に 48 時間培養した。培
養終了後、培養液上清に含まれる γ-アミノ酪
氨酸、クロトノベタインを高速液体クロマトグラ
フィーで定量した。結果を表-3に示す。

化 合 物	培養液中の濃度 (%)	
	γ-アミノ酪氨酸	クロトノベタイン
無 添 加	1.4	0.4
グリセロール	2.0	0
マルトース	2.0	0
ガラクトース	1.9	0.05
シュクロース	1.7	0.3
乳 酸	1.8	0.2

(発明の効果)

D L-カルニチンあるいは、クロトノベタイン
存在下で微生物を培養することにより、D L-
カルニチンあるいは、クロトノベタインから γ-
アミノ酪氨酸を生産する本発明は、従来から知

られている方法、例えば γ-アミノ酪氨酸をメチル化
する方法、あるいはクロトノベタインを接触還元
する方法等と比べて安価に効率的に γ-アミノ酪
氨酸を工業的規模で製造する方法を提供する。

このことは消化器系疾患の治療薬である塩化カ
ルプロニウムの原料を安価に提供できることを意
味し、医薬品製造業界に大いに寄与するものであ
る。

出 願 人 製鉄化学工業株式会社

代 表 者 増 田 裕 治

第1頁の続き

識別記号	庁内整理番号
⑨Int. Cl. 4	
//(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:185)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:01)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:22)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:18)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:425)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:37)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:42)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:05)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:20)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:025)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:07)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:065)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:265)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:15)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:38)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:13)	

識別記号	庁内整理番号
⑩Int. Cl. 4	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:44)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:02)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:64)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:63)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:145)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:46)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:225)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:32)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:365)	
(C 12 P 13/00	
C 12 R 1:465)	